

THESIS

GIESSEN

1967

Aus dem Institut für Ernährungswissenschaft
der Justus Liebig-Universität zu Gießen
Direktor: Professor Dr. H. D. Cremer

Untersuchungen über die Wirksamkeit und Verträglich-
keit einer Kombination von Neomycin, Bacitracin
und Nystatin im Vergleich zur Sulfaguanidin bei Ver-
suchen zur Entkeimung des Darmes der weißen Ratte

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
bei der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

Eingereicht von
HORST SEEGER
Tierarzt aus Habitzheim

Gießen 1967

LANE MEDICAL LIBRARY OF
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR ROAD
PALO ALTO, CALIFORNIA

Aus dem Institut für Ernährungswissenschaft
der Justus Liebig-Universität zu Gießen
Direktor: Professor Dr. H. D. Cremer

Untersuchungen über die Wirksamkeit und Verträglich-
keit einer Kombination von Neomycin, Bacitracin
und Nystatin im Vergleich zur Sulfaguanidin bei Ver-
suchen zur Entkeimung des Darmes der weißen Ratte

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
bei der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

Eingereicht von
HORST SEEGER
Tierarzt aus Habitzheim

Gießen 1967

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen
Fakultät in Giessen

Dekan: Prof. Dr. F. Ulbrich

Berichterstatter: Prof. Dr. H. D. Cremer

Tag der mündlichen Prüfung: 8. Juli 1967

Inhaltsverzeichnis

Seite

A. Einleitung und Zielsetzung	1
B. Übersicht über die durchgeführten Versuche	6
C. Versuchsanordnung	7
1. Versuchstiere	7
2. Tierhaltung	7
3. Zusammensetzung des Grundfutters	8
D. Keimzahlbestimmungen	10
E. Erläuterungen über die Auswahl von Teststoffgaben und Untersuchungsergebnisse des Vorversuches.	12
F. Versuchsbeschreibung Teil I	15
Versuchsbeschreibung Teil II	21
Versuchsbeschreibung Teil III	23
G. Versuch zur Feststellung des zeitlichen Ablaufs der Caecumveränderung	27
H. Diskussion der Versuchsergebnisse	31
I. Zusammenfassung	38
J. Literaturverzeichnis	40

A. Einleitung und Zielsetzung

Zwischen einem höher entwickelten Lebewesen und den in seinem Magendarmkanal vorkommenden Mikroorganismen bestehen mannigfache Beziehungen. Schon PASTEUR fragte, ob die Darmflora für den Wirt schädlich, nützlich oder indifferent sei. Da er glaubte, daß die Bakterien zu der Existenz des Wirtes unbedingt nötig seien, versuchte er, Tiere unter sterilen Bedingungen aufzuziehen und sie mit sterilisierter Nahrung zu versorgen. Andere Autoren, besonders METCHNIKOFF, glaubten an schädliche Wirkungen der Intestinalflora auf den Wirt. Es ist heute bekannt, daß sowohl begünstigende als auch schädliche Einflüsse der Mikroflora auf den Wirtsorganismus bestehen. Ob eine positive oder negative Wirkung auf den Gesamtorganismus ausgeübt wird, hängt von der Art der Bakterien und der allgemeinen Reaktionslage des Körpers ab. Bestimmte pathologische Zustände bewirken ein Virulentwerden verschiedener Keimarten im Magendarmkanal, die dann auf septikämischem oder toxischem Weg den Wirt schädigen können. Unter normalen physiologischen Bedingungen soll die Darmflora einen begünstigenden Einfluß auf den Träger ausüben (25).

So kann das Zusammenleben von Bakterien und Wirtsorganismus als eine echte Symbiose bezeichnet werden, bei der jeder Partner aus dem vorhandenen Zustand seinen speziellen Nutzen zieht und dafür auch Nachteile in Kauf nimmt.

Generell ist somit das Vorhandensein von Bakterien im Verdauungskanal als physiologischer Zustand anzusehen. Endgültige Aussagen über die Bedeutung der physiologischen Darmflora für die Ernährung des Wirtsorganismus zu machen, ist heute noch unmöglich. Bisher sind erst Teilgebiete bearbeitet worden. Besonderes Interesse gilt der Frage, ob Mikroorganismen im Verdauungskanal die Vitaminversorgung beeinflussen. So zeigt HAENEL (16), daß Darmbakterien in

der Lage sind, in vitro Vitamine zu produzieren, und ZAHN (53) weist nach, daß die von Colibakterien und Laktobazillen synthetisierten Vitamine diesen Bakterien als Wachstumsstoffe dienten. Nachdem die Fähigkeit der Keime, Vitamine zu bilden in vitro nachgewiesen war, befaßte man sich intensiv mit der Erforschung der Vitaminsynthese im Verdauungskanal, insbesondere für die Vitamine des B-Komplexes (20, 23, 30, 32, 43). MARTEN (33) führt die enterale Synthese von Vitaminen auf die Tätigkeit der Keime zurück, jedoch räumt er ein, daß sowohl einige Drüsen des Verdauungskanals als auch die Zellen abgestorbener Bakterien auch als Vitaminlieferanten in Frage kommen.

Es sind auch Untersuchungen über die Proteinsynthese der Darmflora gemacht worden (11). Selbst der Serumcholesterinspiegel ist von einer physiologischen Keimbesiedlung des Darmes abhängig, er fiel nach Ausschalten der Darmflora um 20 % (44).

Bei Untersuchungen über die Funktion der Bakterien benötigt man Versuchsobjekte ohne Darmflora. Diese kann man erhalten, indem man Tiere keimfrei hält oder die Darmkeime mit Hilfe schwerlöslicher und schwerresorbierbarer Pharmaka ausschaltet.

Die Versuche mit keimfreien Tieren haben ergeben, daß Leben ohne Bakterien durchaus möglich ist (43). So fand GORDON (13), daß sich das Wachstum von keimfreien und nicht keimfreien Küken bei vollwertiger Ernährung nicht unterscheidet. Bei weiblichen Ratten wurden dieselben Ergebnisse gefunden, nur konventionell gehaltene männliche Ratten wuchsen etwas schlechter als keimfreie. Auch REYNIERS (43) fand, daß Tiere keimfrei leben und sich vermehren können, daß aber die Bakterien das Leben des Wirtsorganismus wesentlich beeinflussen. So meint er, daß die Keime nach der Geburt einen spezifischen Anreiz besonders auf die Verdauungsorgane ausüben, der bei keim-

freien Tieren unterbleibt. Ebenso besteht zwischen keimfreien und nicht keimfreien Lebewesen ein Unterschied in der Nahrungsausnutzung, da die Darmbakterien für ihre metabolische Tätigkeit bei der Verdauung von Zucker und Eiweiß bekannt sind (11).

Unterschiede bestehen auch im Tonus der Darmwand, dies zeigt sich besonders in einem stark vergrößerten Caecum bei manchen keimfreien Tierarten. Ebenso sind der Gehalt der Darmwand an Blut und Lymphknoten vermindert, sowie PH, Flüssigkeitsgehalt und osmotische Bedingungen im Darmlumen der keimfreien gegenüber den nicht keimfreien Tieren verändert (11). Größere Unterschiede im Stoffwechsel als die genannten bestanden nach 6 Generationen keimfreier Haltung gegenüber nicht keimfreien Tieren nicht.

Zwar bietet die keimfreie Haltung die sicherste Gewähr, die Einwirkungen der Bakterien auf den Wirt als Komplex studieren zu können. Will man aber nur einen Teilbereich wie zum Beispiel die Wirkung der Darmflora untersuchen, so stößt man auf Schwierigkeiten. Denn auch außerhalb des Darmkanals vorkommende Bakterien üben eine Wirkung auf das nicht keimfreie Tier aus, von diesem Kontakt sind die keimfreien Tiere ausgeschlossen. Wenn aber keine Bakterien auf den Wirt eingewirkt haben, dann sind möglicherweise bestimmte Reaktionen und Organe nicht normal. Die keimfreie Zucht ist außerdem sehr aufwendig. Ein einziger Defekt oder Fehler im System kann den Erfolg lang dauernder Versuche zunichtemachen. Es müssen das Wasser, die Nahrung, die Behälter und sogar die Luft ständig sterilisiert werden. Die Züchtung muß in der ersten Generation durch Kaiserschnitt erfolgen, und eine ständige Kontrolle der Keimfreiheit ist erforderlich. Daher wurde schon früh dazu übergegangen, die Darmflora mit Hilfe von antibakteriellen Substanzen, wie Sulfonamiden und Antibiotika, auszuschalten.

So verfütterte BLACK (5) 0,5 % Sulfaguanidin in einer gereinigten Kost an Ratten und fand einen starken Gewichtsverlust gegenüber den Tieren, die das Mittel nicht erhalten hatten. Der Schaden war durch Leberextraktgeben zu beheben und er vermutete daher, daß wegen ausgeschalteter Darmflora dem Wirt zu wenig Vitamine zur Verfügung standen. DAFT und SEBRELL (6) haben auf dem Gebiet der durch Sulfonamidgaben hervorgerufenen Vitaminmangelsymptome weitergearbeitet und führten die durch Vitamingaben wieder zu behebende Schäden auf die in ihrer Wirksamkeit gestörte Darmflora zurück, wiesen aber gleichzeitig auf Veränderungen in der Schilddrüse und in den Nieren der mit Sulfonamiden gefütterten Tiere hin. Auch eine wachstumssteigernde Wirkung der Sulfonamide bei vollwertiger Nahrung ist beschrieben worden (4).

Besonders die auftretenden organischen Schäden wie Blasensteine und Enteritis sowie Nierenveränderungen und Todesfälle nach Verabreichen von Sulfonamiden (21, 23, 50) waren der Grund dafür, die Wirkung der Antibiotika auf den Organismus und auf die Darmflora zu untersuchen.

Die Entdeckung der nutritiven Wirkung bestimmter Antibiotika hat dazu geführt, daß fast alle Antibiotika auf diesen speziellen Effekt untersucht wurden. Über den Wirkungsmechanismus besteht noch keine einheitliche Meinung. Die Entdeckung dieser Antibiotikawirkung war ein Begleitergebnis des Versuchs, die Intestinalflora mit Antibiotika auszuschalten, um so die Bedeutung der Keime für die Versorgung des Wirtstieres mit Vitaminen studieren zu können (37). Es war in diesen früheren Versuchen nicht gelungen, die Darmflora mit Streptomycin und mehreren Sulfonamiden vollkommen zu beseitigen (45).

Eine Reduzierung der Keime mit hohen Terramycingaben erzielten PETUELY und LINDNER (41). Die Bakterien waren um 75 - 80 % ihrer ursprünglichen Zahl reduziert, ein völliges Verschwinden konnten sie nicht nachweisen. Auch KNOTHE

(27) fand, daß beim Mensch nach Tetracyclingaben bis zu 4 g pro Tag die Keime stark reduziert waren, daß aber nach Absetzen des Mittels die normale Darmflora sich nach 24 - 72 Std. wieder zurückgebildet hatte.

Über Schäden, die durch therapeutische Dosen von Antibiotika auftraten, berichtet WEINGÄRTNER (51), er führt diese auf die Verdrängung normaler Darmkeime durch unphysiologische Stämme zurück.

Das schwer resorbierbare und mit breitem Wirkungsspektrum versehene Antibiotikum Neomycin wurde von PABST und REMBOLD (38) zur Ausschaltung der Darmflora der Ratte in einer Dosierung von 7 mg, später 3,5 mg pro Tier und Tag gegeben. In der Humanmedizin wird zur Sterilisation des Magendarmkanals vor Operationen eine Kombination von Neomycin und Bacitracin per oral oft verwendet (22).

Zusammenfassend läßt sich sagen:

Für Untersuchungen über die ernährungsphysiologische Bedeutung der Darmflora benötigt man eine Methode, mit der man die Darmflora ohne großen Arbeitsaufwand und ohne Nebenwirkung ausschalten kann.

Bei der keimfreien Haltung bleibt nicht nur der Darmkanal sondern der gesamte Organismus keimfrei, der Einfluß der Darmflora läßt sich also nicht isoliert betrachten. Zudem ist diese Methode sehr arbeitsaufwendig, relativ teuer und störanfällig.

Die bisher zur Keimverarmung des Darmes verwendeten Sulfonamide haben mehr oder weniger starke Nebenwirkungen. So ist es oft unmöglich auszusagen, ob das Versuchsergebnis mehr durch die beabsichtigte oder mehr durch die unerwünschte Sulfonamidwirkung zustande kam.

Daher wird es für notwendig gehalten, eine Methode zu finden, mit der man ohne großen Aufwand und bei möglichst geringen Nebenwirkungen die Darmflora über einen längeren Zeitraum sicher beseitigen kann.

B. Übersicht über die durchgeführten Versuche.

In 5 Versuchsteilen wurde untersucht, ob zur Keimverarmung des Rattendarmes eine Kombination von Neomycin, Bacitracin und Nystatin der Verwendung von Sulfaguanidin überlegen ist.

1. In einem Vorversuch wird die Wirksamkeit und Verträglichkeit der Kombination von Neomycin, Bacitracin und Nystatin getestet.
2. Danach wird an vollernährten Tieren untersucht, ob toxische Erscheinungen festzustellen sind. Gleichzeitig wird die Wirksamkeit der Mittel im Hinblick auf die Reduzierung der Keimzahl im Darm verfolgt.
3. Im 3. Teil wird an Hand der Gewichtszunahme der Tiere festgestellt, ob man mit der verwendeten Kombination einen Mangel an "nichtessentiellen" B-Vitaminen erzeugen kann. Es wird gleichzeitig auch auf sichtbare Vitaminmangelerscheinung geachtet. Als "nichtessentiell" werden die Vitamine bezeichnet, die in der Nahrung nicht vorhanden zu sein brauchen, da sie im Intermediärenstoffwechsel oder von der Darmflora in ausreichender Menge gebildet werden können.
4. Den Mangeltieren aus Versuch 3 werden die fehlenden Vitamine bis auf eines verabreicht, wobei in jeder Gruppe jeweils ein anderes Vitamin ausgelassen wird, um die relative Intensität des Mangels an den einzelnen Vitaminen feststellen zu können.
5. Da am Ende der Versuche starke Caecumvergrößerungen bei den Tieren vorhanden sind, die die Antibiotikakombination erhalten haben, wird untersucht, nach welcher Zeit diese Vergrößerungen auftreten, ob und wann sie sich nach Absetzen des Mittels wieder zurückbilden.

C. Versuchsanordnung

1. Versuchstiere

Die Versuche wurden an weißen männlichen Ratten vom Stamm Royal-Wistar durchgeführt. Wir verwendeten nur männliche Tiere, da diese gleichmäßigere Versuchsergebnisse liefern als weibliche. Außerdem sollen bei weiblichen Ratten häufiger Hypovitaminosen als bei männlichen auftreten(46). Das Gewicht am Versuchsbeginn betrug mindestens 55g, leichtere Tiere wurden nicht verwendet. Die Tiere wurden im Alter von 21 Tagen aus gewerblicher Zucht bezogen.¹⁾

2. Tierhaltung

Die Tiere wurden in Einzelkäfigen mit Maschendrahtboden gehalten. Diese Aufstallung muß als sehr günstig bezeichnet werden, da die Tiere sauber zu halten und der Futter- und Wasserverbrauch sowie die Gewichtszunahmen jedes einzelnen Tieres leicht zu kontrollieren sind. Die relative Luftfeuchtigkeit wurde zwischen 50 und 60%, die Temperatur bei $23 \pm 1^\circ\text{C}$ durch automatische Steuerung gehalten. Bei Ausschluß von Tageslicht wurde im Tierstall mit Leuchtröhren ein 12-stündiger Tag-Nachtrhythmus mittels Uhrwerk eingehalten. Es erfolgte eine ständige Luftumwälzung und Frischluftzufuhr. Um den Tieren nach dem Transport das Eingewöhnen zu erleichtern, wurden sie in Sammelkäfigen auf ein Vorfutter gesetzt, das zu einem Drittel aus halbsynthetischer Kost und zu zwei Dritteln aus Haferflocken bestand.

1) Lieferanten:

Ivanovas, Kiesellegg, Allgäu (erster Hauptversuch)
Meyer/Arend, Bad Salsuflen (Vorversuch und 2.Hauptversuch, sowie Caecumversuch.)

Beim Umsetzen in Einzelkäfige wurden schwache und kümmernde Tiere ausgesondert, die anderen erhielten noch 3 Tage lang das Vorfutter in den Einzelkäfigen. Um das bei der Ratte übliche Verstreuen des Futters zu verhindern, war im Futternapf ein Maschendrahtgitter vorhanden. Gefüttert wurde täglich, die Tiere erhielten Futter und Wasser ad libidum. Die Wägungen erfolgten im ersten Teil wöchentlich, im 2. und 3. Teil alle 2 Tage. Der Futterverbrauch wurde durch Rückwägen wöchentlich festgestellt.

3. Zusammensetzung des Grundfutters

Die hier verwendete halbsynthetische Kost war wie folgt zusammengesetzt:

Für 100 g wurden benötigt:

60 g Rohrzucker (davon 30 g gemahlen)

20 g Casein (vitaminfrei) *)

5,8 g Reisstärke (DAB 6)

7,0 g Schweineschmalz, darin die Vitamine A, D, E ¹⁾

4,0 g Mineralstoffmischung ²⁾

0,2 g Methionin

0,2 g Cholinchlorid in 0,8 g Reisstärke gemischt

2,0 g Reisstärke (DAB 6), darin B-Vitamine

1) Flüssigem Schweineschmalz wurden auf 7 g folgende fettlösliche Vitamine zugesetzt:

Vitamin A	1000 IE
-----------	---------

Vitamin D (D_2 ölig)	130 IE
-------------------------	--------

Vitamin E, DL Tocopherolacetat	10 mg
--------------------------------	-------

2) Die Mineralstoffmischung (USp XIII, 2) wurde in folgender Weise hergestellt:

1. Lösen von 222 g Zitronensäure in 500 ml heißem destillierten Wasser.

2. Vermischen mit 266 g $CaCO_3$, 57,8 g $MgCO_3$ (40 % MgO), 68,4 g Na_2CO_3 (wasserfrei), 282,6 g K_2CO_3 (vorher in $150^\circ C$ getrocknet).

*) Nutritional Biochemicals USA

3. Hinzufügen der vorher in destilliertem Wasser in folgender Menge gelösten Spurenelemente.

40 mg KJ, 234 mg $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 124 mg NaF, 88 mg $\text{KAl}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$.

4. Zugabe von 14,88 g Eisenzitat (17,5 % Fe), das in 296,6 g HCL (36-%ig) = 251,4 ml aufgelöst worden war.

5. Verrühren mit 19,2 g Schwefelsäure (96-%ig) = 10,4 ml und 10 ml aqua dest., dem 238,6 g H_3PO_4 (86,5-%ig) = 140,4 ml zugegeben worden waren.

Die Lösung wurde bis zum Abklingen der Kohlensäurebildung intensiv gerührt, in flache Glasschalen ausgegossen, bei 95°C 24 Std. lang getrocknet und anschließend gemahlen.

Es wurden 3 Vitaminmischungen für die jeweiligen Versuchsteile hergestellt.

B.-Vit. je 100 g Futter in mg	I	II	III
Thiamin	0,2	0,5	0,2
Riboflavin	0,3	1,0	0,3
Pyridoxin	0,3	0,5	0,3
Pantothersr.	1,0	5,0	1,0
Inosit	4,0	40,0	4,0
Cobalamin	0,0008	0,002	0,0008
Niacin	-	10,0	3,0
PAB	-	10,0	6,0
Biotin	-	0,03	0,02
Folsäure	-	0,5	0,04
Menadion	-	1,0	0,015
Ascorbinsäure	-	-	10,0

Das Cobalamin wurde in wässriger Lösung gegeben.

D. Keimzahlbestimmungen

Die Keimzahlen wurden nach der "direkten Methode" wie sie BREED (26) und PETUELY (42) beschreiben, bestimmt. Der Kot fiel durch einen Drahtgitterrost des Käfigs auf abgeflammete Zeitungen und wurde mit einer sterilisierten Pinzette in Reagenzgläser gebracht, die durch Siliconstopfen verschlossen wurden. Reagenzgläser, Pinzetten und Stopfen wurden vorher in einem Sterilisationsapparat 30 Min. lang ausgekocht und 3 Std. lang im Trockenschrank bei 150°C getrocknet. Alle Proben wurden sofort nach der Entnahme tiefgefroren und im Laufe einer Woche auf ihren Keimgehalt untersucht. Im allgemeinen wird der Keimgehalt je g Kot bestimmt (18). Mensch, Hund und Ratte besitzen einen gemeinsamen Darmflorotypus. Die züchtbaren Bakterien liegen beim Menschen um 500 Milliarden (44).

Da nicht immer ein g Kot zu erhalten war, wurde die jeweilig abgesetzte Menge mit dem sterilisierten Reagenzglas gewogen und in ein anderes umgefüllt. So war die je Ratte untersuchte Kotmenge zu bestimmen. Die Kotprobe wurde durch Zugabe einer berechneten Menge von abgekochtem destilliertem Wasser auf 1 : 100 verdünnt. Nachdem der Kot eine Stunde lang so eingeweicht worden war, wurde solange geschüttelt, bis eine gleichmäßige Suspension entstanden war. Mit einer geeichten Platinöse wurden 0,01 cm³ auf einen ausgekochten Objektträger gebracht und mit einem in der Flamme ausgeglühten Draht auf 8 cm² gleichmäßig verteilt. Die lufttrockene Platte wurde mit einer 2-%igen alkohol. Parafuchsinlösung eine Minute lang gefärbt. Das Mikroskop besaß eine Ölimmersion und 2500-fache Vergrößerung, wie sie schon PETUELY (42) zur Differenzierung zwischen gram.pos. und gram.neg. Bakterien verwendet hat.

Mit einem Mikrometer wurde der Durchmesser des Gesichtsfeldes im Mikroskop bestimmt. Ein Teilstrich entsprach 1/100 mm, es wurden 6,6 Teilstriche ausgezählt. Daher war der

Durchmesser des Gesichtskreises 6,6/100mm, der Radius also 0,033 mm. Die Fläche des Gesichtskreises betrug somit 0,0034 mm². Auf 8 cm² des Objektträgers befanden sich daher 235294 Gesichtsfelder. Die im Durchschnitt von 20 Gesichtsfeldern ausgerechneten Keime multipliziert mit der Zahl der Gesichtsfelder sowie mit der Verdünnung 100 und dem Mengenfaktor (für 0,01 cm³ = 100) zeigen die Zahl der Keime pro verwendete Kotmenge an. Die Keimzahl wurde auf ein g Kot berechnet.

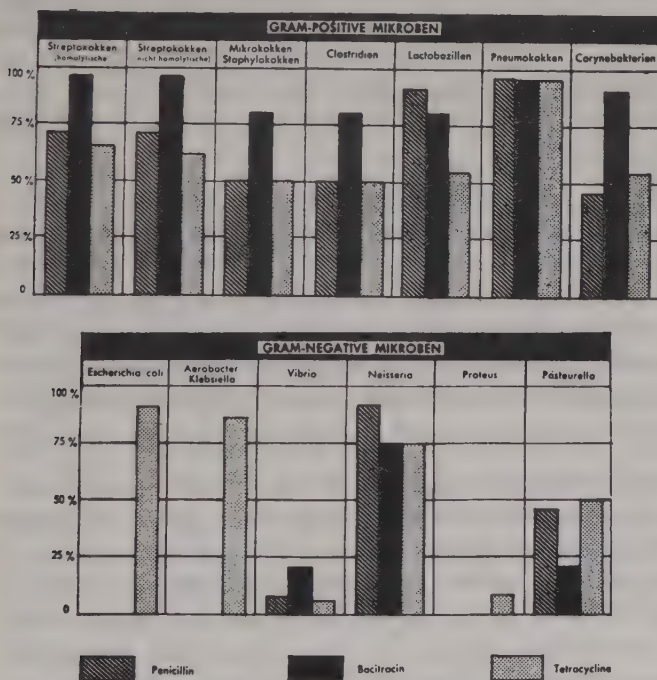


Abb. 2: Säulendiagramm der Wirkungsweise von Penicillin, Bacitracin und den Tetracyclinen gegenüber „gram-positiven“ und „gram-negativen“ Bakterien. (Die Säulen geben die Aktivität der einzelnen Antibiotika gegenüber verschiedenen Stämmen in % an).

A/S Apothekernes Laboratorium for Spezialpräparater, Oslo/Norwegen 3 6 (1965)

E. Erläuterungen über die Auswahl von Teststoffgaben und Untersuchungsergebnisse des Vorversuches

Bacitracin, das 1945 entdeckt wurde, wirkt wachstumshemmend auf grampositive Bakterien, wie Entero-, Pneumo-, Strepto- und Staphylokokken. Auch einige pathogene gramneg. Erreger werden erfaßt. Die Diagramme zeigen die Aktivität des Bacitracins im Vergleich zu Penicillin und den Tetracyclinen. Das Wirkungsspektrum gleicht dem des Penicillins, jedoch können die Keime keine Fermente bilden, die das Antibiotikum zerstören (22). Daher ist Bacitracin sehr wirkungsfest, eine Kreuzreaktion kommt bei diesem Antibiotikum nicht vor (22).

Die Toxicität bei oraler Zufuhr ist sehr gering, die Resorption aus dem Magendarmkanal ist minimal (3). So konnte beim Menschen nach oraler Zufuhr von 180 000 IE nach 3 Tagen kein Bacitracin im Blut festgestellt werden (52). Um die Haltbarkeit des Bacitracin in Futtermischungen zu erhöhen, wurde das Mittel an Zink gekoppelt und kommt nur noch als Zinkbacitracin in den Handel. Nach einjähriger Lagerung tritt daher nur ein Verlust von 5 - 10 % ein (22).

Das gewählte Kombinationsmittel Neomycin ist ein zuckerhaltiges Antibiotikum, es wird wenig resorbiert, ist daher oral untoxisch und ergänzt Bacitracin hinsichtlich des Wirkungsspektrums. In der Hauptsache wird Neomycin B + C verwendet. Es besitzt 726 E/mg und wirkt im alkalischen Bereich wesentlich stärker als im sauren. Fast das ganze aufgenommene Neomycin wird mit dem Kot ausgeschieden, es wird also im Magendarmkanal nicht zerstört. Neomycin wirkt gegen gramneg. und einige grampos. Bakterien und hat sich zur Reduktion der Darmflora vor Operationen sehr bewährt (3).

In vitro zeigten sich besonders Bakt. anthracis, Corynebakt. Klebsiellen, Mycobakt. Pasteurellen, Shigellen, Mikro- und Streptokokken als empfindlich. Orale Gaben ver-

Ändern die Darmflora. Besonders die aeroben Bakterien wie *Esch. coli*, *Aerobakter aerogenes*, *Streptokokkus fascalis* und *Proteus vulgaris* werden stark angegriffen (3).

Pilzinfektionen treten bei starken oralen Antibiotikagaben manchmal auf. Dies wird auf die Ausschaltung der Darmbakterien zurückgeführt, die normalerweise eine antagonistische Wirkung auf die Pilzbesiedlung ausüben sollen (27). Auch eine direkte Stimulierung des Pilzwachstums durch Antibiotika wird angenommen, hier sind es besonders die *Candida*-Arten, die stark zu wuchern beginnen (47). Das von uns verwendete Mittel Nystatin=Moronal wirkt nicht nur gegen *Candida*-Arten, sondern auch gegen zahlreiche andere Pilze (35). Die Toxizität des Mittels ist sehr niedrig, Mäuse vertrugen bis zu 12,5 Mill.E/kg, ohne toxische Erscheinungen zu zeigen (2). Nystatin ist mit der halbsynthetischen Kost sowie mit Neomycin und Bacitracin gut kombinierbar, ohne Veränderungen in seiner Wirksamkeit befürchten zu müssen (39). Eine genaue Dosierungsangabe zur Sterilisierung des Rattendarmes konnte an Hand von Literaturangaben nicht gefunden werden, deshalb wurde die Kombination Neomycin, Bacitracin und Nystatin in einem Vorversuch auf Verträglichkeit getestet.

Die LD 50 des Bacitracins liegt für Ratten bei 3375 mg/kg und für Neomycin bei 14500 mg/kg (40). Nimmt man das Gewicht der Ratte zu Versuchsbeginn mit 50 g an, so liegt die LD 50 bei etwa 168 mg, die für Neomycin bei 725 mg. Es wurde im Vorversuch mit einem Fünftel der LD 50 für Bacitracin und mit einem Zwölftel der LD 50 für Neomycin gearbeitet.

Eine LD 50 für Nystatin wird für die Ratte nicht angegeben, Mäuse vertrugen bis zu 12,5 Mill.E/kg ohne Schaden (2). Die Wirkung *in vitro* liegt bei 4 - 31 IE/ml, im Mittel also bei 15 IE, das entspricht 15000 IE/kg. Die 400-fache Menge wurde zur Probe gegeben, das entspricht 6 Mill.IE/kg Futter, wobei ein mg = 3000 IE ist.

Der Vorversuch lief über 12 Tage. 3 Gruppen je 7 junge Tiere erhielten die folgende Dosierung an Zusatzmitteln pro kg halbsynthetischer Kost.

	Kontr.Gr.	Hohe Dosis	Niedr.Dosis
Neomycin	-	6 g	3 g
Bacitracin	-	3 g	1,5 g
Nystatin	-	2 g	1 g

Alle Versuchstiere waren während der Versuchszeit munter und zeigten guten Appetit. Nach 2 Tagen trat bei fast allen Tieren, die Antibiotika erhielten, Durchfall auf, der aber das Allgemeinbefinden der Tiere nicht beeinträchtigte. Die durchschnittlichen Gewichtszunahmen lagen während dieser Zeit bei allen Gruppen etwa gleich. Am Schluß wurden die Tiere getötet und sezziert. Pathologische Veränderungen, besonders Schleimhautschäden des Intestinaltraktes, konnten grobsinnlich nicht erkannt werden. Dagegen fiel bei beiden Teststoffgruppen die starke Vergrößerung des Caecum auf. Im Kot waren die Keimzahlen bei den Antibiotikagruppen gegenüber der Kontrollgruppe stark reduziert.

Kurze Erläuterung über das im Versuch verwendete Sulfonamid Sulfaguanidin.

Sulfonamide sind Derivate der p-Aminobenzosulfonsäure. Das Sulfonamid Sulfaguanidin wird in Tierversuchen zur Entkeimung des Rattendarmes oft verwendet (23, 29). Es ist schwer löslich, wird aber in relativ großer Menge resorbiert (zu ungefähr 40-60 %) und erscheint zu 15-50 % im Harn. Man erreicht mit diesem Präparat fast eine komplette Desinfektion des gesamten Darmes, Keime sind aus den Faeces nicht mehr zu züchten (21). So werden Pneumo-Meningo-, Gono-, sowie B-hämolytische Streptokokken und Erreger der Dysenterie (Shigella-Gruppe) gut beeinflusst.

Es bestehen zwischen den einzelnen Sulfonamiden hinsichtlich der Spezifität ihrer Wirkungen keine Unterschiede, anders ist es mit dem Verhalten dieser Substanzen im Organismus (21).

F. Versuchsbeschreibung

Teil I

Im ersten Versuch sollte festgestellt werden, in welchem Umfang verschiedene Dosierungen der beschriebenen Antibiotika gegenüber Sulfaguanidin die Keimzahl im Rattendarm reduzieren und welche Nebenwirkungen auftreten. Zur Bestimmung der Keimzahlen wurden Kotproben untersucht, eventuelle Nebenwirkungen sollten anhand der Gewichtszunahme, des Futterwirkungsverhältnisses und des Gewichts und anatomischen Bildes der Organe beurteilt werden.

Auf Grund der Ergebnisse des Vorversuchs (s. o.) wurden folgende Mengen an Teststoff in mg pro kg halbsynthetischer Kost zugesetzt.

	Ko	Resu	NeBaI	NeBaII	NeBaIII
Neomycin	-	-	3600	1200	400
Bacitracin	-	-	1800	600	200
Nystatin	-	-	450	150	50
Resulfon	-	25000	-	-	-

Erläuterung der Bezeichnung:

Ko	= Kontrollgruppe
Resu	= Resulfongruppe (Sulfaguanidin)
NeBaI	= höchste Antibiotikagabe
NeBaII	= mittlere Antibiotikagabe (1/3 der höchsten Antibiotikagabe)
NeBaIII	= niedrigste Antibiotikagabe (1/9 der höchsten Antibiotikagabe)

5 Gruppen à 12 Ratten erhielten über 10 Wochen eine vollwertige halbsynthetische Kost. Nachdem die Tiere 4 Tage lang an dieses Futter gewöhnt worden waren, wurden die oben angegebenen Teststoffmengen dem jeweiligen Futter

beigemischt. Die Sulfonamidgruppe erhielt, um die in früheren Versuchen aufgetretenen Übergangsschwierigkeiten zu vermeiden, an den ersten 3 Tagen nur die halbe Konzentration an Sulfaguanidin in der Nahrung. Vor dem Zusatz der Teststoffe wurden von allen Tieren Kotproben auf den Keimgehalt untersucht, danach am 3., 6., 14., 21., 35., 49., 63. und 70. Tag.

Um die Kotproben zu erhalten, wurden unter die Käfige abgeflamte Zeitungen gelegt. Hatten die Tiere leichten Durchfall, so wurden sie kurz am Schwanz hochgehalten und setzten dann fast immer Kot ab. Die Methode der Bestimmung des Keimgehaltes der Faeces ist oben beschrieben.

Am Schluß der Versuche wurden die Tiere durch Dekapitation getötet und folgende Organe auf pathologische Veränderungen untersucht und gleichzeitig gewägt: Herz, Lunge, Milz, Nieren, Leber, Caecum voll und Caecum leer.

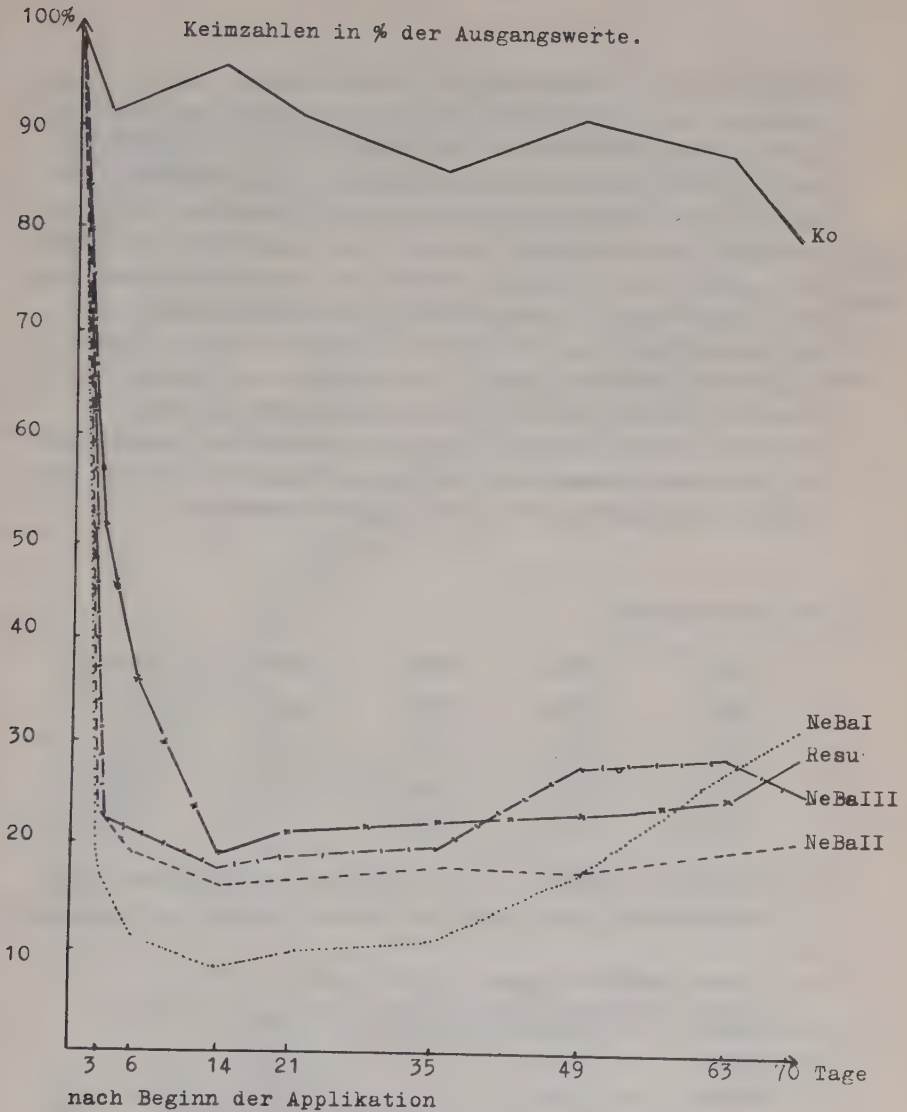
Versuchsergebnisse:

Die Verträglichkeit der Zusatzmittel wurde während des Versuchs an äußerlich sichtbaren Kriterien festgestellt. Gestörtes Allgemeinbefinden drückt sich in einer Veränderung des Haarkleides, des Temperaments, im Nachlassen der Futter- und Wasseraufnahme und in einer Veränderung des Kotes aus.

Die Kontrollgruppe und die NeBaIII-Gruppe zeigten das gleiche Verhalten; alle Tiere waren während der Versuchszeit munter, hatten ein glänzendes Haarkleid und ungestörten Appetit. Dies war auch bei den Tieren der NeBaI und NeBaII-Gruppe der Fall. Nur trat nach eins bis zwei Tagen bei allen NeBaI-Tieren ein mittelstarker Durchfall auf, der während der ganzen Versuchszeit andauerte, aber das Allgemeinbefinden der Tiere nicht störte.

Abb.I

Keimzahlen in % der Ausgangswerte.



Ko ohne Zusatz

Resu 2,5% Sulfaguanidin im Futter

NeBaI höchste Antibiotikakombination im Futter

NeBaII mittlere Antibiotikakombination im Futter

NeBaIII niedrigste Antibiotikakombination im Futter

Einige Tiere der NeBaII-Gruppe zeigten einen etwas feuchten, breiigen Kot, es handelte sich aber noch nicht um Durchfall. Das Verhalten der Tiere war ungestört. Die Sulfonamidgruppe verhielt sich jedoch wesentlich anders. Von 12 Tieren starben 5 in den ersten Versuchstagen und 2 kümmerten. Alle Tiere hatten ein struppiges, rauhes Fell, waren besonders schreckhaft und unruhig. Durchfall konnte bei ihnen nicht festgestellt werden. Die Untersuchung der Kotproben ergab bei allen Teststoffgruppen eine rapide Abnahme der Keime in den ersten Versuchstagen, sogar die Keimzahlen der NeBaIII-Gruppe waren stark reduziert. Die graphische Darstellung (I) zeigt die Abnahme der Keimzahlen in Prozent der Ausgangswerte. Erst gegen Versuchsende erfolgte, besonders bei der höchsten Antibiotikadosierung, ein leichtes Ansteigen.

Gewichtszunahmen:

	Ko	Resu	NeBaI	NeBaII	NeBaIII
X_1	230,6 $\pm$	178,8 $\pm$	208,6 $\pm$	211,3 $\pm$	224,1 $\pm$
	22,2	52,2	10,7	19,5	9,9
X_2	100 $\pm$	77,5 $\pm$	90,4 $\pm$	91,6 $\pm$	97,1 $\pm$
	9,62	22,6	4,65	8,47	4,32

X_1 = Durchschnittswert jeder Gruppe und Standardabweichung
 X_2 = Mittelwerte in Prozent der Kontrollgruppe und Streuung.

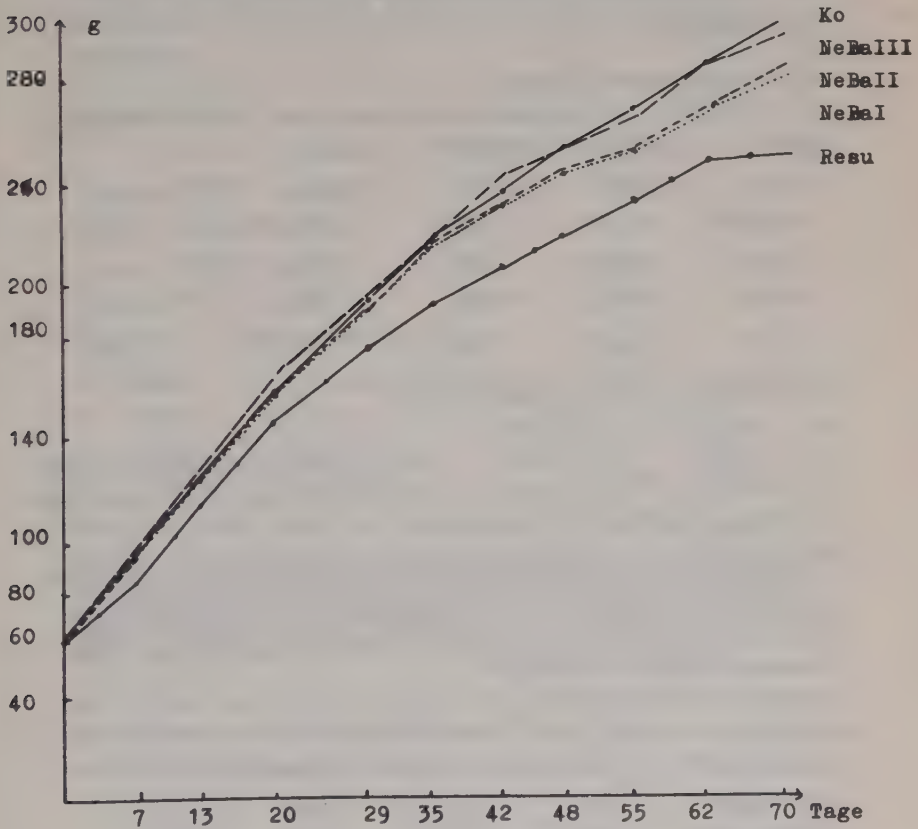
Der t-Test zeigte folgende Ergebnisse:

Ko - Resu	t = 4,406	entspricht	P < 0,001
Ko - NeBaI	t = 3,095	"	P < 0,01
Ko - NeBaII	t = 2,250	"	P < 0,05
Ko - NeBaIII	t = 0,925	Unterschied nicht gesichert	

Wie aus der Gesamtgewichtszunahme (Tab.) und dem zeitlichen Ablauf der Gewichtsentwicklung (Abb. II) zu ersehen ist, nahmen die Tiere der Kontrollgruppe ausreichend und gleich-

Abb.II

Körpergewichtszunahmen bei Futter mit "nichtessentiellen" B-Vitaminen.



Ko	ohne Zusatz
Resu	2,5% Sulfaguanidin im Futter
NeBaI	höchste Antibiotikakombination im Futter
NeBaII	mittlere Antibiotikakombination im Futter
NeBaIII	niedrigste Antibiotikakombination im Futter

mäßig an Gewicht zu. Die höchste und mittlere, nicht aber die unterste Antibiotikadosis, verursachten in den letzten 3 Wochen eine Depression der Gewichtszunahmen. Die Resulfronsulage verringerte die Gewichtszunahme aber noch weit stärker, offenbar schon wenige Tage nach Applikationsbeginn.

Futterwirkungsverhältnis:

es ist definiert als Gewichtszunahme durch Futteraufnahme.

es ergaben sich folgende Werte:

Ko	Resu	NeBaI	NeBaII	NeBaIII
0,264±	0,250±	0,269±	0,268±	0,264±
0,02	0,05	0,02	0,03	0,01
100,0±	94,6±	102,0±	102,0±	100,0±
7,58	18,92	7,58	11,42	3,78

Der t-Test zeigte folgendes Bild:

Ko - Resu t = 0,889

Ko - NeBaI t = 0,646

alle P-Werte sind 0,05 und da-

Ko - NeBaII t = 0,506

mit statistisch nicht gesichert.

Ko - NeBaIII t = 0

Hinsichtlich des Futterwirkungsverhältnisses bestanden zwischen den Versuchsgruppen keine gesicherten Unterschiede. Die Organgewichte werden hier als absolute Werte im Gruppendurchschnitt aufgeführt:

	Ko	Resu	NeBaI	NeBaII	NeBaIII
Leber	8,55	5,99	6,69	6,84	7,64
Caecum voll	1,66	1,61	10,96	8,09	5,74
Caecum leer	0,63	0,52	2,11	1,65	1,06
Nieren	2,28	1,92	2,04	2,14	2,35
Herz	1,19	1,04	1,14	1,01	1,20
Lunge	1,54	1,30	1,60	2,11	2,11
Milz	0,61	0,44	0,68	0,62	0,56

Wie die Tabelle zeigt, haben sich nur bei der Leber, dem Caecum voll und leer größere Unterschiede ergeben. Die etwas erhöhten Lungengewichte der NeBaII und NeBaIII-Gruppe sind dadurch zu erklären, daß einige Tiere eine chronische Pneumonie hatten.

Berechnet man die Gewichte von Leber, Caecum voll und leer in Prozent des Körpergewichtes, so zeigen sich folgende Ergebnisse:

1. Leber

Ko	Resu	NeBaI	NeBaII	NeBaIII
2,92 _±	2,46 _±	2,47 _±	2,50 _±	2,66 _±
0,92	0,16	0,16	0,14	0,18
100,0 _±	84,4 _±	84,7 _±	85,4 _±	91,1 _±
21,3	5,6	5,5	4,7	6,3

Der t-Test zeigt folgendes Bild:

Ko - Resu	t = 1,388	entspricht P	nicht signifikant
Ko - NeBaI	t = 2,500	"	P < 0,05
Ko - NeBaII	t = 2,300	"	P < 0,05
Ko - NeBaIII	t = 1,397	"	P nicht signifikant

Es zeigte sich, daß das Lebergewicht bei allen Feststoffgruppen unter dem der Kontrollgruppe lag, zu sichern waren die Unterschiede aber nur bei der höchsten und mittleren Antibiotikadosis. Die Streuung war bei der Kontrollgruppe etwa vier mal höher als bei allen anderen Gruppen.

Das Caecum wurde gefüllt gewogen, anschließend ausgewaschen und mit Filtrierpapier getrocknet. Hier ist das Gewicht des gefüllten Caecums in % des Körpergewichtes wiedergegeben.

Ko	Resu	NeBaI	NeBaII	NeBaIII
0,560 _±	0,677 _±	4,028 _±	2,951 _±	2,068 _±
0,166	0,125	1,143	0,817	0,673
100,0 _±	120,8 _±	719,2 _±	526,9 _±	369,2 _±
29,6	22,3	205,5	145,9	120,0

Der t-Test zeigt folgendes Bild:

Ko - Resu	t = 1,60	entspricht P nicht signifikant
Ko - NeBaI	t = 10,319	" P < 0,001
Ko - NeBaII	t = 9,919	" P < 0,001
Ko - NeBaIII	t = 7,535	" P < 0,001

Das gefüllte Caecum war bei der NeBaI-Gruppe besonders stark vergrößert und nahm fast die ganze ventrale Bauchhöhle ein. Hier ist zu erwähnen, daß der Blinddarm der Sulfonamidgruppe grobsinnlich nicht vergrößert war und auch statistisch gesicherte Unterschiede im Gewicht gegenüber der Kontrollgruppe nicht nachgewiesen werden konnten.

Die leeren Blinddärme erbrachten folgende Werte (in Prozent des Körpergewichts):

Ko	Resu	NeBaI	NeBaII	NeBaIII
0,215±	0,223±	0,784±	0,609±	0,379±
0,064	0,035	0,190	0,316	0,055
100±	103,7±	364,6±	283,2±	176,2±
29,8	16,2	88,2	146,7	25,6

Der t-Test zeigte folgendes Bild:

Ko - Resu	t = 0,301	entspricht P nicht signifikant
Ko - NeBaI	t = 9,835	" P < 0,001
Ko - NeBaII	t = 4,236	" P < 0,001
Ko - NeBaIII	t = 6,722	" P < 0,001

Es ist zu ersehen, daß auch die leeren Blinddärme der Antibiotikagruppen stark vergrößert sind.

Pathologische Veränderungen der Organe:

Die Sektion ergab bei 7 Tieren der Resulfongruppe nephritische Veränderungen mit Blasensteinen oder Blasengries. Einige Tiere hatten eine Enteritis. In der NeBaI-Gruppe hatten 4 Tiere eine leichte Nephritis und Cystitis und 2

eine leichte Enteritis. In der NeBaII-Gruppe waren 3 Tiere mit leichtem Blasengries, eins mit Nephritis und eines mit Pneumonie anzutreffen. In der NeBaIII-Gruppe hatten 5 Tiere Blasengries, aber keine Steine. Ein Tier litt an Cystitis und Nephritis. Einige Tiere hatten eine leichte und eins eine sehr starke Pneumonie. Auch bei der Kontrollgruppe hatten 2 Tiere leichten Blasengries und 2 leichte Nephritis. Das Caecum war bei allen Antibiotikagruppen stark vergrößert, nicht dagegen bei der Resulfon- und Kontrollgruppe.

Teil II

Versuchsbeschreibung

Wie im Teil I wurden 5 Gruppen gebildet, diesmal allerdings mit je 15 weißen Ratten, die über 10 Wochen die halbsynthetische Kost (s.o.) mit den gleichen Teststoffgaben aber ohne die "nichtessentiellen" B-Vitamine erhielten. Die essentiellen B-Vitamine wurden in Mengen, die den Bedarf mit Sicherheit decken, gegeben (200 % der Vitaminmischung I, siehe S.9). Die Tiere waren zu Versuchsbeginn zwischen 63,1 und 63,5 g im Gruppendurchschnitt schwer. Sie wurden täglich gefüttert und getränkt und jeden 2. Tag gewogen. Der Futterverbrauch wurde wöchentlich festgestellt.

Die Tiere erhielten das Versuchsfutter nachdem sie vorher 4 Tage lang die halbsynthetische Kost mit der Vitaminmischung I 200-%ig bekommen hatten.

Die Sulfonamidgruppe wurde wieder in zwei Stufen an die Dosis gewöhnt.

Auf eine Kontrolle der Keime wurde verzichtet, da der Versuch unter fast den gleichen Bedingungen wie im Teil I lief.

Die Tiere der NeBaI- und der NeBaII-Gruppe wurden für den 3. Versuchsteil verwendet.

V Versuchsergebnisse

In der Sulfonamidgruppe fraßen nach 1 - 2 Versuchstagen fast alle Tiere schlecht, und es starben 11 Ratten in den ersten Versuchstagen. Bei der Sektion wurden bei diesen Tieren gastro-enteritische Symptome, z. T. hämorrhagischer Art, gefunden. Ein Tier starb kurz vor Versuchsschluß und es zeigte denselben pathologischen Befund. Die übrigen 3 nahmen kaum zu, waren sehr nervös, zeigten ein struppiges Haarkleid und stark hervorstehende Augen. Von der Kontrollgruppe starben 5 Tiere, 2 von diesen kümmerten schon nach etwa 6 Tagen und verendeten dann. Ein Tier starb in der Versuchsmittle, die letzten 2 am Versuchsende. Bei den ersten 3 Tieren konnte keine genaue Todesursache festgestellt werden, die letzten 2 zeigten ein großes Blutkoagulum im Mediastinum. Sonst waren alle Tiere dieser Gruppe munter, hatten guten Appetit und ein ungestörtes Allgemeinbefinden.

Die Tiere der Antibiotikagruppen verhielten sich anfangs normal, später waren die Tiere der NeBaI- und der NeBaII-Gruppe etwas unruhiger als die anderen. Eine Veränderung im Haarkleid war nicht festzustellen. Auffallend war, daß der Kot der NaBaI- und der NeBaII-Gruppe ockergelb war und erst gegen Versuchsende bräunlich wurde.

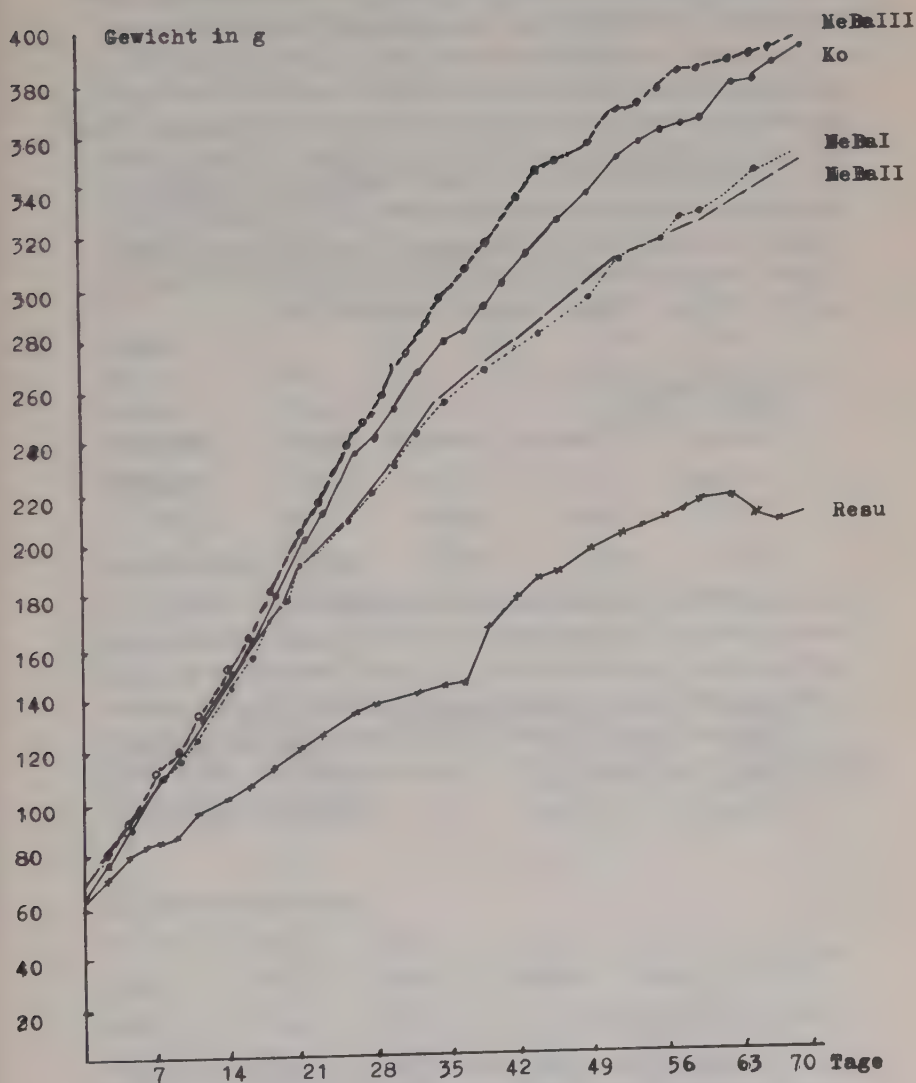
Die NeBaI-Gruppe hatte wieder mittelstarken Durchfall, während bei der NeBaII-Gruppe etwa die Hälfte an leichterem Durchfall litt.

Gewichtszunahmen

Ko	Resu	NeBaI	NeBaII	NeBaIII
329,7 [±]	150,6 [±]	287,2 [±]	284,6 [±]	333,5 [±]
40,4	50,3	41,7	36,0	58,8
100,0 [±]	45,7 [±]	87,1 [±]	86,3 [±]	101,1 [±]
12,2	15,2	12,6	10,9	17,8

Abb. III

Gewichtszunahmen bei Futter ohne "nichtessentielle" B-Vitamine



Ko ohne Zusatz

Resu 2,5% Sulfaguanidin im Futter

NeBaI höchste Antibiotikakombination im Futter

NeBaII mittlere Antibiotikakombination im Futter

NeBaIII niedrigste Antibiotikakombination im Futter

Der t-Test zeigte folgendes Bild:

Ko - Resu	t = 6,33	entspricht	P < 0,001
Ko - NeBaI	t = 2,44	"	P < 0,05
Ko - NeBaII	t = 2,88	"	P < 0,01
Ko - NeBaIII	t = 0,16	"	P nicht signifikant

Die Gewichtszunahmen waren ungleichmäßig, das heißt, es wechselten größere Gewichtszunahmen mit Wachstumsstillstand bei allen Teststoffgruppen (Abb. III). Am Schluß fielen einige Tiere der NeBaI- und der NeBaII-Gruppe sogar im Gewicht ab oder nahmen kaum noch zu.

Futterwirkungsverhältnis

Ko	Resu	NeBaI	NeBaII	NeBaIII
0,279 [±]	0,195 [±]	0,274 [±]	0,265 [±]	0,280 [±]
0,021	0,051	0,020	0,016	0,030
100,0 [±]	69,9 [±]	98,2 [±]	95,0 [±]	100,3 [±]
2,6	18,3	7,4	5,8	10,7

Der t-Test:

Ko - Resu	t = 5,596	entspricht	P < 0,001
Ko - NeBaI	t = 0,732	"	P nicht signifikant
Ko - NeBaII	t = 2,535	"	P < 0,02
Ko - NeBaIII	t = 0,031	"	P nicht signifikant

Teil III

Versuchsbeschreibung

Im 3. Versuchsteil wurden die Tiere der NeBaI und der NeBaII-Gruppe des 2. Versuchsteils auf 5 Gruppen à 5 Tiere aufgeteilt. Die drei schwersten Tiere wurden aussortiert. Diese 5 Gruppen erhielten die mittlere Dosis (II)

der Antibiotikakombination, wurden täglich gefüttert, getränkt und alle 2 Tage gewogen. Da untersucht werden sollte, an welchen Vitaminen ein besonderer Mangel vorzuliegen hat, erhielten die Tiere von nun an auch die nichtessentiellen B-Vitamine, von denen im Futter jeder Gruppe jeweils ein anderes fehlte. Die Tabelle (S. 4.) zeigt die Mengen der verabreichten Vitamine.

Vitaminsatz je 100 g Nahrung in mg:

	I	II	III	IV	V
Niacin	-	10	10	10	10
PAB	10	-	10	10	10
Biotin	0,05	0,05	-	0,05	0,05
Folsäure	0,5	0,5	0,5	-	0,5
Menadion	1	1	1	1	-

Versuchsergebnisse:

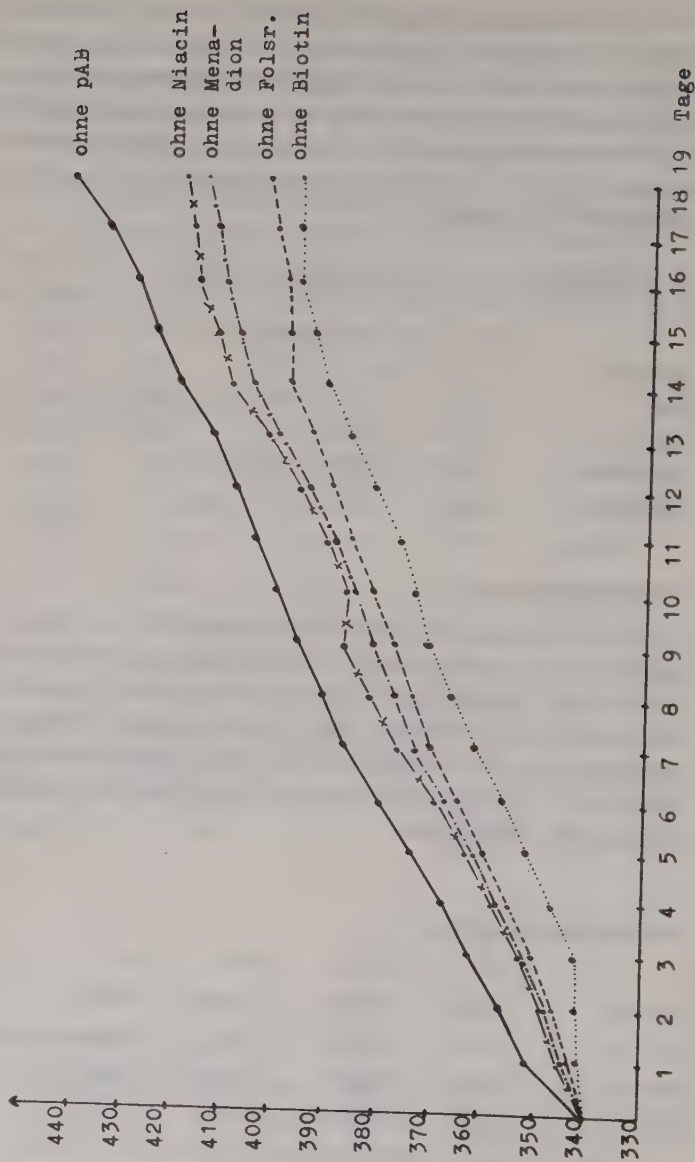
Alle Tiere waren während der Versuchszeit in ihrem Allgemeinbefinden kaum gestört. Die anfänglich leichte Nervosität ließ langsam nach, nur die Tiere der 3. und 4. Versuchsgruppe mit Biotin- bzw. Folsäuremangel zeigten diese Symptome bis zum Schluß. Der Kot von allen Tieren war nicht mehr eckergelb wie im 2. Versuchsteil, sondern dickbreilig und bräunlich.

Gewichtsentwicklung

I	II	III	IV	V
76,0 $\pm$	85,4 $\pm$	55,0 $\pm$	61,4 $\pm$	76,0 $\pm$
21,6	4,9	15,3	20,1	6,2
89,9 $\pm$	100,0 $\pm$	64,4 $\pm$	71,9 $\pm$	89,0 $\pm$
25,3	5,7	17,9	25,5	7,2

Abb. IV

Gewichtszunahmen bei Gabe unterschiedlicher Kombinationen von "nichtessentiellen" B-Vitaminen an Mangelratten.



NEB II mittlere Antibiotikakombination im Futter

Der t-Test:

II - I	t = 0,868	nicht signifikant
II - III	t = 4,227	entspricht $P < 0,01$
II - IV	t = 2,598	" $P < 0,05$
II - V	t = 2,919	" $P < 0,02$

Die Gruppen mit einem Mangel an Biotin und Folsäure wuchsen besonders in den ersten Versuchstagen schlechter als die Gruppen, denen Niacin, PAB oder Menadion fehlte (Abb. IV). Nach 6 Tagen wurde der Unterschied geringer. Später waren die Gewichtszunahmen dieser beiden Gruppen aber wieder deutlich kleiner, während der letzten 2 Wägungen blieb das Gewicht nahezu konstant. Nach 18 Tagen waren die Gewichtszunahmen der Biotin- und Folsäuremangelgruppen etwa ein Viertel geringer als die der anderen Gruppen.

Futterwirkungsverhältnisse

I	II	III	IV	V
0,203±	0,217±	0,159±	0,171±	0,198±
0,051	0,020	0,034	0,027	0,020
93,5±	100,0±	73,3 ±	78,8±	91,2±
23,5	9,2	15,7	12,4	9,4

Der t-Test:

II - I	t = 0,572	nicht signifikant
II - III	t = 3,288	entspricht $P < 0,02$
II - IV	t = 3,063	" $P < 0,02$
II - V	t = 1,484	nicht signifikant

Hinsichtlich des Futterwirkungsverhältnisses bestanden gesicherte Unterschiede zwischen den Gruppen II und III sowie zwischen II und IV, somit gegenüber der Gruppe mit dem besten Wert, hier wiederum der Gruppe mit Mangel an PAB.

Anhand der Gewichtszunahme und des Futterwirkungsverhältnisses ist deutlich zu erkennen, daß die Antibiotikakombination insbesondere einen Mangel an Biotin und Folsäure hervorgerufen hat. Bei der Sektion ergab sich, daß bei allen Gruppen je ein Tier Blasengries hatte, ausgenommen die Gruppe V, bei der jedes Tier eine leichte Cystitis aufwies. Sonst war bei allen Tieren der Blinddarm so stark gefüllt, daß er den größten Teil der Bauchhöhle einnahm.

G. Versuch zur Feststellung des zeitlichen Ablaufs der Caecumveränderungen

Über Caecumvergrößerungen bei Versuchen mit keimfreien Ratten wurde schon früher berichtet. Es trat ein so großes Caecum auf, daß die Bauchwand nach außen vorgewölbt wurde (15). Auch LUCKEY (32) erwähnt, daß bei seinen ersten Versuchen mit keimfreien Ratten das Gewicht des Blinddarms manchmal bis zu 30 % des Körpergewichtes ausmachte und die Tiere daran starben. Aber nicht alle keimfreien Tiere zeigen diese Erscheinung, so fehlt sie fast immer an keimfreien Küken, und bei manchen Rattenstämmen tritt sie auch nicht auf (24).

Auch nicht keimfreie Tiere zeigen bei der Verabreichung verschiedener Substanzen Caecumvergrößerungen. So bewirken Sulfonamide (19), Antibiotika (48), Cyclamate (49), Kartoffelstärke im rohen Zustand (28) und Laktose (10) ebenfalls diese Blinddarmvergrößerungen.

Bei der Sektion im ersten Teil des Hauptversuches wurde festgestellt, daß bei allen Tieren, die Antibiotika erhalten hatten, diese Blinddarmveränderungen auftraten. Es war von Interesse, herauszufinden, nach welcher Zeit die Caecumvergrößerung beginnt, wann sie ihre höchste Ausdehnung erreicht hat, ob und nach welcher Zeit sie sich nach Absetzen des Mittels wieder zurückbildet. Gleichzeitig war die Frage zu klären, wie sich das Gewicht der Blinddarmwand verhält.

Versuchsbeschreibung Teil I A

44 weiße männliche und weibliche Ratten im Gewicht von 190 - 250 g wurden in Einzelkäfigen gehalten, täglich gefüttert und getränkt. Je 22 erhielten die vollwertige halbsynthetische Kost oder zusätzlich die Antibiotikakombination

Abb.V

Gewicht des Caecums bei älteren Tieren.

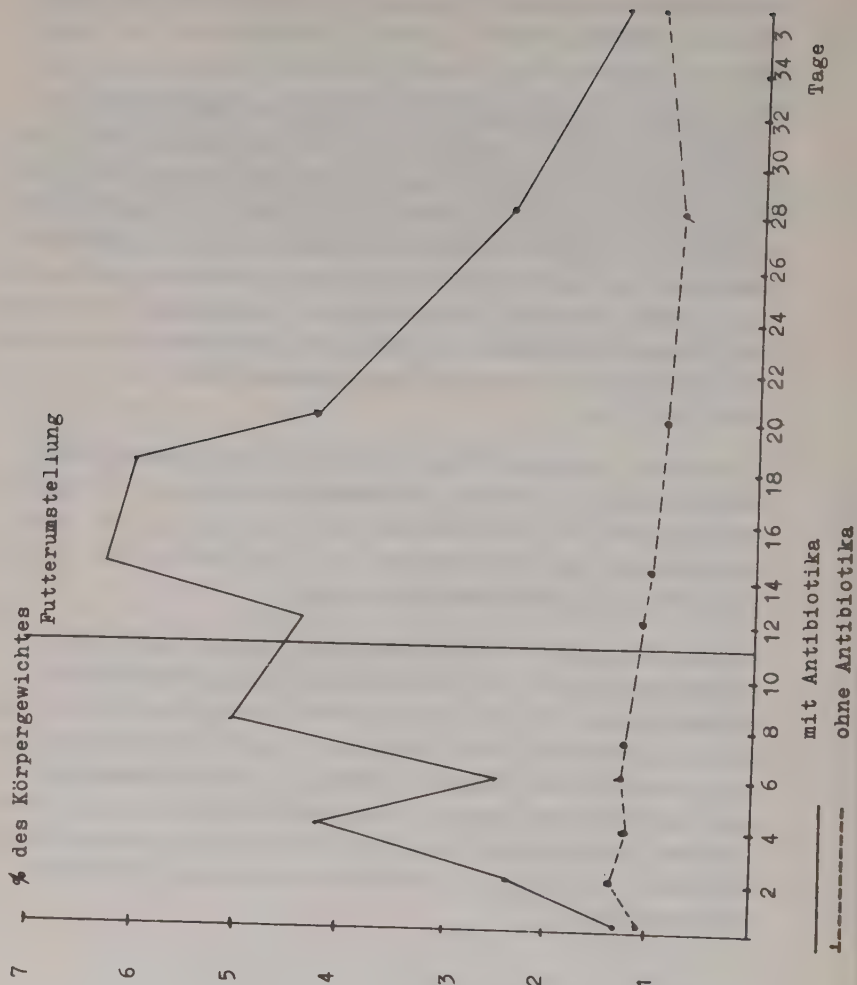
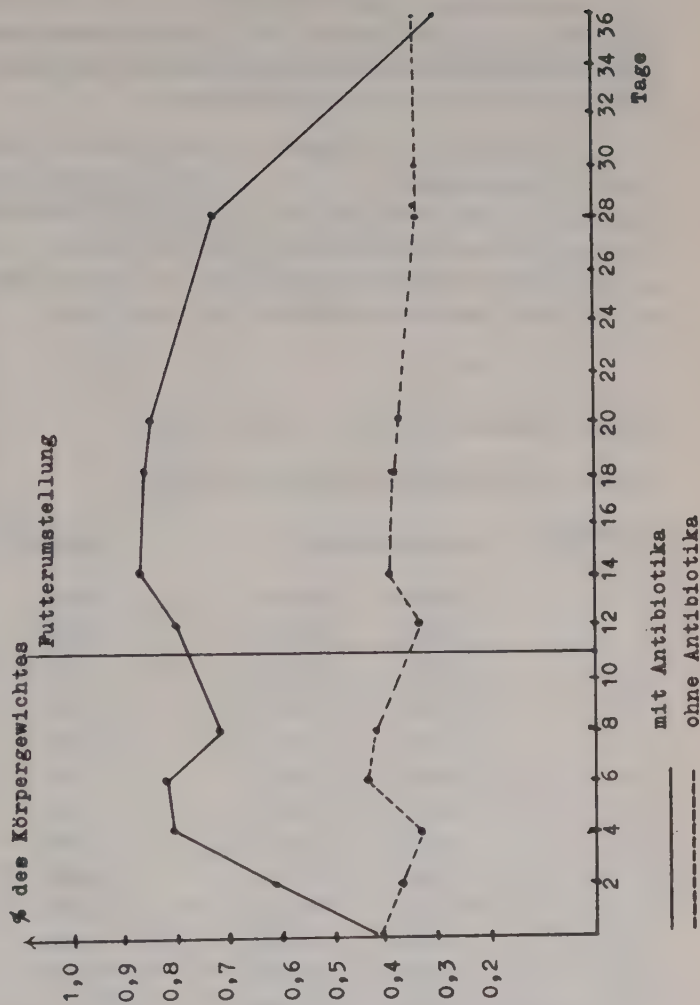


Abb. VI

Gewichtsveränderung des leeren Caecums bei älteren Ratten



entsprechend der Dosis NeBaI. 6 Std. 1, 2, 4, 6, 8 Tage nach Versuchsbeginn wurden jeweils 2 Tiere der Versuchs- und Kontrollgruppe getötet. Am 11. Versuchstag wurde, da keine weitere Caecumvergrößerung mehr zu erkennen war, antibiotikafreies Futter verabreicht.

Um die Rückbildung zu erkennen, wurden jeweils wieder 2 Tiere je Gruppe nach 1, 3, 7, 9, 17, 25 Tagen seziert. Das Caecum wurde gewogen. Da 2 Ratten der Versuchsgruppe starben, war es nicht möglich, bis zum Schluß je 2 Tiere zu untersuchen, deshalb entsprechen die 2 zuletzt ermittelten Werte den Feststellungen an einem Tier.

V Versuchsergebnisse Teil I (ältere Tiere)

Caecum in Prozent des Körpergewichtes!

Versuchst- tage	Versuchsgruppe		Kontrollgruppe	
	Caecum voll	Caecum leer	Caecum voll	Caecum leer
1/2	1,35	0,43	1,14	0,4
2	2,35	0,61	1,31	0,37
4	4,20	0,81	1,20	0,33
6	2,40	0,82	1,25	0,44
8	5,05	0,72	1,15	0,42
12	4,35	0,81	0,98	0,34
14	6,25	0,88	1,00	0,39
18	6,03	0,87	0,88	0,39
20	4,25	0,86	0,84	0,37
28	2,40	0,74	0,78	0,35
36	1,35	0,35	1,00	0,39

Das Absetzen des Versuchsfutters erfolgte am 11. Tag.
Abb. V, VI.

Abb.VII

Gewichtsentwicklung des Caecums bei jungen Ratten

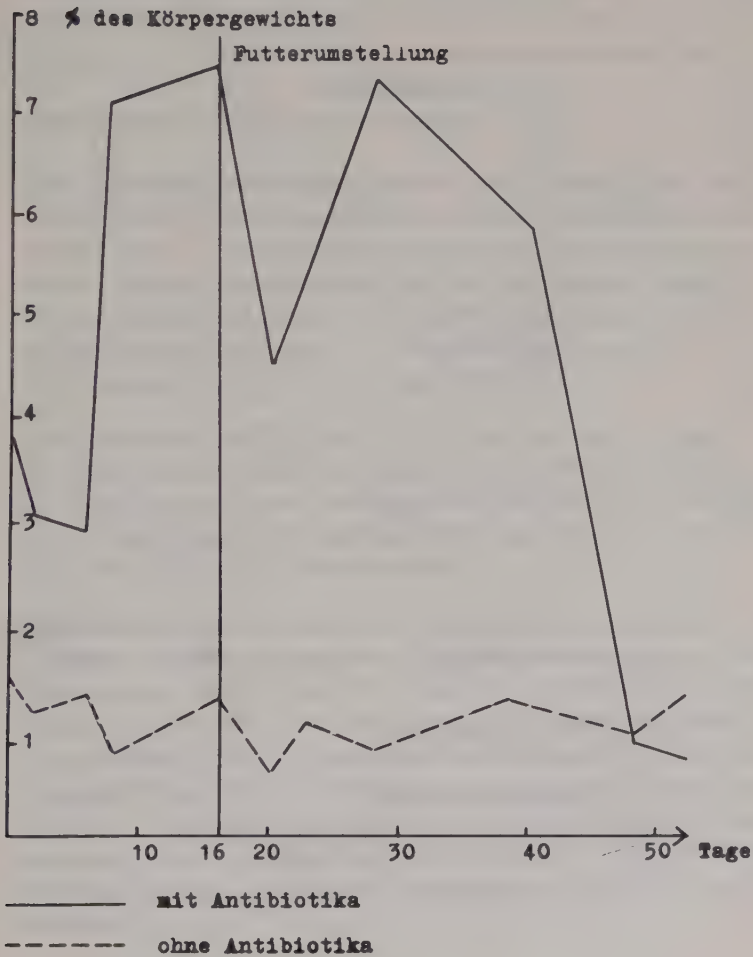
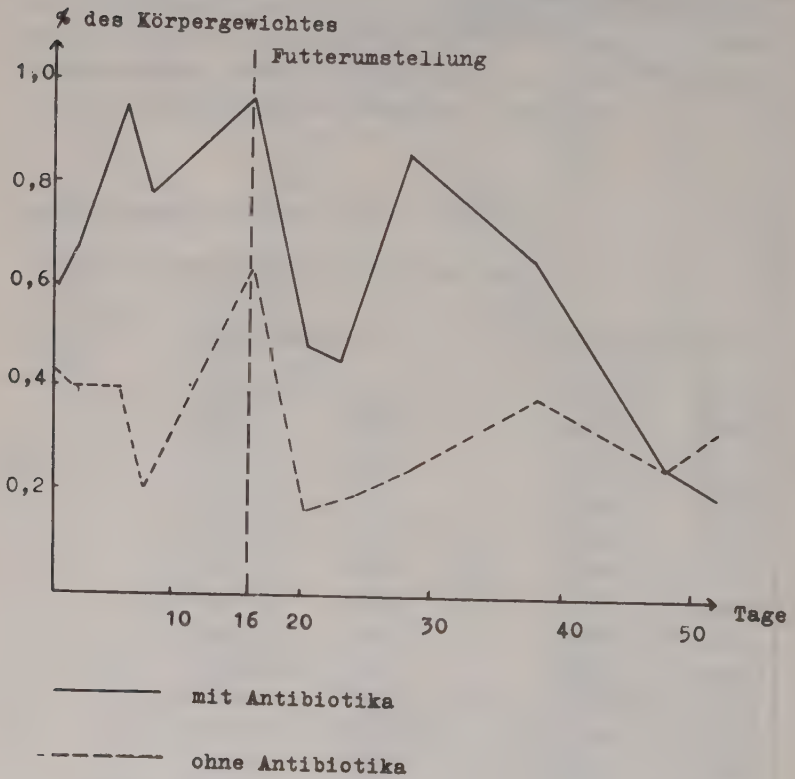


Abb.VIII

Gewicht des leeren Caecums bei jungen Ratten.



Im 2. Versuchsteil wurde der Test an 44 jüngeren Ratten im Anfangsgewicht zwischen 47 und 90 g wiederholt. Auf Grund der Ergebnisse des ersten Teils wurden die Sektionszeiten etwas verändert. Zur Feststellung der Vergrößerung des Caecums fand die Sektion nach 1, 2, 6, 8 und 16 Tagen statt. Die Rückbildung wurde jeweils 4, 7, 12, 22, 32 und 36 Tage darauf kontrolliert. Das Futter wurde am 16. Tage umgestellt.

Versuchsergebnisse und Diskussion

Die Caecumvergrößerungen traten bei jungen Ratten sehr schnell auf (folg. Tab. und Abb. VII u. VIII). So war schon nach 6 - 24 Stunden der Blinddarm so stark ausgedehnt, daß er den größten Teil der Bauchhöhle einnahm. Da der Inhalt zu dieser Zeit vorwiegend aus feinen Gasbläschen bestand, kann die Vergrößerung anhand der Gewichtszunahme nicht voll erkannt werden.

Nach Absetzen des Mittels war in den ersten 3 Tagen keine Rückbildungstendenz festzustellen, danach verkleinerte sich das Caecum, aber das Gewicht nahm zu. Dies ist auf eine Eindickung des Inhaltes zurückzuführen und nicht auf eine nochmalige Vergrößerung.

Bei den älteren Tieren veränderte sich der Blinddarm nicht ganz so schnell wie bei den jüngeren, besonders zu Versuchsanfang (Abb. V u. VI). Dies kann darauf zurückzuführen sein, daß die älteren Tiere in der Futteraufnahme zu Versuchsbeginn etwas zurückhaltender waren. Die Gewichtszunahmen des vollen und leeren Caecum gehen in etwa parallel. Es scheint sich also um keine reine Ausdehnung, sondern um eine echte Vergrößerung der Blinddarmwand zu handeln. Wie es zu diesen Veränderungen kommt, ist nicht bekannt.

Manche Autoren konnten durch Verabreichen von Streptokokken an keimfreie Tiere die Blinddarmvergrößerung nach 24 Std. um etwa 50% reduzieren. Laktobazillen waren zu der Rückbildung nicht in der Lage (24). Auch hemmte die Verfütterung von rohfaserreicher Kost bei keimfreien Tieren die Caecumvergrößerung. Dies zeigt, daß sowohl die Art der Nahrung als auch das Fehlen bestimmter Bakterien an diesen Veränderungen beteiligt sind. Da die verabreichte Antibiotikakombination auch in der Humanmedizin in hohen Dosen zur Sterilisation des Magendarmkanals vor Operationen verwendet wird, verdient dieser Befund besondere Beachtung. Über Caecumvergrößerungen bei Menschen nach Verabreichung dieser Kombination liegen keine Angaben vor. Dies kann darauf zurückzuführen sein, daß die Ratte eine wesentlich schnellere Wachstumsrate besitzt und daher bei ihr das Caecum intensiver reagiert.

Versuchsergebnisse Teil II (jüngere Ratten)

Versuchstage	Versuchsgruppe		Kontrollgruppe	
	Caecum voll	Caecum leer	Caecum voll	Caecum leer
1	3,75	0,6	1,45	0,43
2	3,14	0,67	1,22	0,41
6	2,89	0,96	1,36	0,41
8	7,06	0,77	0,81	0,2
16	7,45	0,97	1,34	0,63
20	4,51	0,41	0,64	0,16
23	5,35	0,46	1,07	0,18
28	7,35	0,86	0,8	0,25
38	5,88	0,64	1,31	0,38
48	0,88	0,23	0,9	0,24
51	0,7	0,19	1,33	0,32

Der Teststoff wurde am 16. Tag abgesetzt.

Diskussion der Versuchsergebnisse.

In der vorliegenden Arbeit war zu untersuchen, welchen Einfluß verschieden hohe Antibiotikagaben im Vergleich zu Sulfaguanidin auf die Magendarmflora der Ratte ausüben. Die Keime waren über den Versuchszeitraum sowohl bei den Antibiotikagruppen als auch bei der Sulfonamidgruppe stark reduziert. Die Ausschaltung der Bakterien erfolgte sehr schnell, schon nach einigen Tagen konnten nur noch 10% der ursprünglich vorhandenen Keime bei der höchsten Antibiotikadosierung nachgewiesen werden.

Über ähnliche Ergebnisse berichten Petuely (41) mit Terramycin und Knothe (27) mit Tetracyclinen.

Da die Keimzahlen erst gegen Versuchsende wieder langsam anstiegen und die Bakterienzellen bei allen Antibiotikagruppen wesentlich kleiner waren als bei der Sulfonamid- und Kontrollgruppe, kann angenommen werden, daß auch die noch vorhandenen Mikroorganismen im Darm der Ratte stärker geschädigt und in ihrer physiologischen Wirkung gehemmt waren. Bei Sulfonamidverabreichung waren die Keime im mikroskopischen Bild genau so groß wie bei der Kontrollgruppe. Sulfaguanidin scheint somit das Wachstum, nicht aber die Vermehrung der Darmkeime zuzulassen.

Auch keimfreie männliche weiße Ratten wuchsen bei ausreichender Zufuhr an allen Vitaminen etwas schlechter als nicht keimfreie (13,30,31,36). Genaue Angaben über die Wachstumsdifferenzen nach 10 Wochen liegen aber nicht vor. An Hand der graphischen Darstellungen kann jedoch abgeschätzt werden, daß nach diesem Zeitraum eine Gewichts-

differenz von 10-15g auftrat. Vergleicht man bei den eigenen Untersuchungen die MeBaI und die MeBaII-Gruppe des ersten Versuchsteils mit der Kontrollgruppe, dann sind nach 70 Tagen Gewichts differenzen festzustellen, die auch nicht wesentlich höher liegen als bei den oben angeführten Versuchen mit keimfreien Tieren. Die Gewichts differenzen zwischen der MeBaI und der Kontrollgruppe sind jedoch statistisch hochgesichert, zwischen den Gruppen Ko und MeBaII mit $P < 0,05$ gesichert und die Unterschiede zur Resulfongruppe sogar sehr hoch gesichert.

Warum die keimfreie Haltung und die Keimverarmung des Darmes vollernährte männliche Ratten schlechter wachsen lassen, ist bisher ungeklärt. Auf Grund der Caecumvergrößerung sollte man vielmehr höhere Gewichts zunahmen erwarten. Das beobachtete geringere Lebergewicht oder die dünneren Darmwände werden einerseits unabhängig vom Geschlecht festgestellt und reichen andererseits dem Umfange nach nicht aus, um Gewichts differenzen von 15g zu verursachen.

Das Futterwirkungsverhältnis ist bei vollernährten keimfreien Ratten gleich dem von nicht keimfreien Ratten (30,32). Auch bei den eigenen vollernährten Ratten führte die Keimverarmung des Darmes - weder durch Sulfaguanidin noch durch die Antibiotikakombination - zu einer Verschlechterung der Futterausnutzung. Deutlich verschlechtert war das Futterwirkungsverhältnis dagegen bei Tieren ohne "nichtessentiellen" B-Vitamine im Futter, wenn sie Sulfaguanidin oder für längere Zeit die Antibiotikakombination in der Dosis I oder II erhalten hatten (Versuchsteil III). Dies ist offensichtlich auf den Vitaminmangel zurückzuführen.

Die Organgewichte waren, außer dem der Leber und des Caecums voll und leer nicht verändert. Die Leber war bei den Antibiotikagruppen mit der höchsten und mittleren Dosis leichter als die der Kontrollgruppe. Ein Vergleich mit keimfreien Tieren zeigt, daß das Lebergewicht bei keimfreien Ratten geringer ist als bei nicht keimfreien (30). Hinsichtlich der Verringerung des Lebergewichtes hatte die Antibiotikakombination in Abhängigkeit von der Dosis somit eine ähnliche Wirkung wie die keimfreie Haltung.

Möglicherweise ist das geringere Gewicht der Leber auf eine funktionelle Entlastung der Leber zurückzuführen, die eventuell dadurch zustande kommt, daß von den Darmbakterien keine oder in vermindertem Umfang Toxine produziert und von der Leber entgiftet werden.

Die Caecumvergrößerung trat bei allen Antibiotikagruppen auf, nicht aber bei der Resulfongruppe. Bei keimfreien Ratten tritt fast immer eine Caecumvergrößerung auf, jedoch soll es auch Rattenstämme geben, bei denen diese Erscheinung nicht zu sehen ist (32). Keimfreie Küken zeigen demgegenüber überhaupt keine Caecumvergrößerung. Über Auftreten und Rückbildung der Caecumveränderung wurde in einem besonderen Versuch berichtet.

Eine starke toxische Wirkung der antibiotischen Substanzen und ein darauf zurückzuführendes pathologisches Bild, wie es bei den Sulfonamiddtieren auftritt, kann nicht angenommen werden, da der Durchfall und die Caecumvergrößerung das Allgemeinbefinden der Tiere fast nicht gestört haben. Außerdem müßten dann zwischen der NeBaI und der NeBaII-Gruppe größere Unterschiede bestehen,

da angenommen werden kann, daß eine 3x höhere Dosierung der Antibiotika auch deutlich toxischer wirkt. Sulfaguanidin, das zu einem großen Teil resorbiert wird, dürfte in erster Linie als Nervengift wirken. So wird berichtet, daß Sulfonamide zu Neuritiden, Krämpfen und Lähmungen führen können (50).

Als Anilinderivate können diese Substanzen auch zu Hämoglobinaemie führen (50). In der Bakterienzelle verdrängen die Sulfonamide die PAB nach dem Massenwirkungsgesetz. Ein gewisser Einfluß der resorbierten Mengen auch auf die Zellen des Wirtes kann nicht ausgeschlossen werden. Eine Acetylierung von Sulfonamiden erfolgt im Blut, in der Leber und in den Nieren. Ablagerungen entstehen besonders in den Nieren und können diese schädigen (21). Früher beschriebene (29) toxische Erscheinungen, Todesfälle und besonders Nieren und Blasenveränderungen traten auch bei den eigenen Versuchen zahlreich auf. Die Beobachtung, daß die Sulfaguanidingabe auch bei vollernährten Ratten und bei solchen, die nichtessentielle B-Vitamine nicht im Futter bekommen hatten, schon nach wenigen Tagen zu einer erheblichen Depression der Gewichtszunahme führt, berechtigt zu der Schlußfolgerung, daß diese nicht nur als Folge des durch die Ausschaltung der Darmflora induzierten Vitaminmangels auftrat. Vielmehr kann ein direkter Einfluß des Sulfaguanidins auch auf den Bedarf an einem oder mehreren nichtessentiellen B-Vitaminen angenommen werden, da Sulfaguanidin bei den Mangeltieren gegenüber den vollernährten Tieren eine viel stärkere toxische Wirkung entfaltet, die aber gegenüber den bisherigen Erfahrungen bei der Vitaminverarmung durch keimfreie Haltung viel zu früh auftrat. Möglicherweise werden außer der für die Acetylierung benötigten Pantothenensäure (Coenzym A) auch andere Vitamine für die Entgiftung

von Sulfaguanidin verbraucht. Die gewaltige Gewichtszunahme der 3 Überlebenden Resultentiere nach Umstellen des Futters auf die Nahrung der McBal-Gruppe des 2. Versuchsteils zeigt, wenn auch gesicherte Angaben wegen der geringen Tierzahl nicht gemacht werden können, wie stark toxisch dieses Sulfonamid im Vergleich zur verwendeten Antibiotikakombination wirkt.

Die Frage, ob die Ratte auf die intestinale Synthese von B-Vitaminen angewiesen ist, wird von EMERSON (9) bejaht. Nach seinen Untersuchungen scheint die Ratte fähig zu sein, ihren Bedarf an Folsäure, Biotin und Vitamin K mit Hilfe der Darmbakterien zu decken. Dagegen sind keimfreie Tiere nach LUCKEY (31) auf die Zufuhr von Biotin, Folsäure und Vitamin K mit dem Futter angewiesen. Diese Vitamine brauchen konventionell gehaltene Ratten nicht verabreicht zu werden. Daß bei keimfreien Küken durch Inokulierung von *Esch. Coli* ein Folsäuremangel verhindert werden konnte, zeigt, daß Bakterien im Darm Vitamine bilden und der Wirtsorganismus diese Vitaminquelle nutzen kann. Es soll hier nur darauf hingewiesen werden, daß die Ausnutzbarkeit der im Darm synthetisierten Vitamine weitgehend davon abhängt, inwieweit die betreffende Spezies coprophagiert, d.h. die Faeces wieder aufnimmt.

Die Frage, wann erste Mangelsymptome auftreten, wird verschieden beantwortet. So berichtet LUCKEY (31), daß bei einem Mangel an Biotin bei kleinsten Gaben von Folsäure und Vitamin K bei keimfreien Ratten erst nach 4 Monaten eindeutige Symptome, wie Gewichtsverlust, Alopecie, Diarrhoe, trockene Dermatitis und glänzende Augen auftraten, die sich durch Gaben von Biotin beheben ließen. Diese Symptome traten bei gewöhnlichen Ratten bei gleicher Ernährung nicht auf. Interessant ist es auch, daß

bei vollernährten keimfreien Ratten der Gehalt des Kotes an Vit.- B₁₂ und Folsäure höher ist als in der Nahrung, dagegen geringer ist bei Niacin, Riboflavin, Biotin und Pantothensäure (32).

Über eine schnellere Erzeugung eines Folsäuremangels bei keimfreien Ratten berichtet Mc DANIEL (zit nach 30). Nach seinen Angaben traten Wachstumsdepressionen bei keimfreien Tieren, die eine an "nichtessentiellen B-Vitaminen arme Kost erhielten, von der 8. Woche an auf. Gewöhnliche Ratten zeigten diesen Mangel nicht.

Die Depression der Gewichtszunahme der Tiere, die durch die höchste und mittlere Antibiotikadosis keimverarmt waren und Futter ohne "nichtessentielle" B-Vitamine erhalten hatten, begann in dem eigenen Versuch wie aus der Abb.(3) zu ersehen ist, nur geringfügig früher. Das auffallend veränderte, etwas nervöse Verhalten der Tiere dieser Gruppe wurde von uns als ein Symptom des beginnenden Mangels an B-Vitaminen vermutet.

Der 3. Versuchsteil erbrachte den Beweis, daß ein Mangel an Biotin und Folsäure vorgelegen haben muß, denn die Tiere der beiden Gruppen ohne Biotin-bzw. Folsäure zugabe wuchsen wesentlich schlechter und lagen auch im Futterwirkungsverhältnis weit unter den anderen 3 Gruppen.

Schlußfolgerung.

Die Verabreichung einer Kombination von Neomycin, Bacitracin und Nystatin zur Ausschaltung der Darmflora ist bei gleich starken bakteriziden Wirkungen wesentlich untöxischer und ungefährlicher als die Gabe von Sulfaguandin. Die kleinste hier verwendete Antibiotikadosis scheint etwas zu niedrig zu liegen und so bestimmten Bakterien-

stammen noch einen Wirkungsraum zu gewährleisten; die Keimzahl im Kot war noch deutlich reduziert, aber es konnte kein Vitaminmangel erzeugt werden. Die höchste Dosis hatte bei beiden Versuchsteilen etwa dieselbe Wirksamkeit wie die mittlere Dosis, aber es trat dabei störender Durchfall auf. Daher wird zur Keimverarmung des Rattendarmes die mittlere Dosis empfohlen.

Zusammenfassung der Versuchsergebnisse.

Um die Bedeutung der Intestinalflora besser erforschen zu können, sucht man seit längerer Zeit nach Wirkstoffen, die die Darmflora wirkungsvoll ausschalten und möglichst keine Nebenwirkungen haben.

In dieser Arbeit wird eine Kombination von Neomycin, Bacitracin, Nystatin im Vergleich zu dem bisher häufig verwendeten Sulfaguanidin an wachsenden männlichen weißen Ratten auf diesbezügliche Eignung untersucht. Die Antibiotikakombination wurde in einem Vorversuch auf Verträglichkeit geprüft. Die kurzfristig noch keine toxischen Wirkungen hervorrufende Dosis wurde in den weiteren Versuchsteilen als Höchstmenge eingesetzt. Zusätzlich wurde eine mittlere und eine kleinste Dosis ausgewählt, die jeweils um den Faktor 3 kleiner waren. Dann wurde untersucht, welche Dosierung bei geringster toxischer Wirkung die Darmflora ausreichend stark verringert.

Bei allen Teststoffgruppen waren die Keimzahlen stark reduziert. Bei vollernährten Ratten traten infolge der Verabreichung der Antibiotika keine gravierenden toxischen Wirkungen auf, nur bei der höchsten Antibiotikagabe ein mittelstarker Durchfall während der ganzen Versuchszeit. Ansonsten waren, wie bei keimfreier Haltung, die Gewichtszunahmen und das Lebergewicht leicht verringert und das volle und leere Caecum sehr viel schwerer. Schädigende Wirkungen der Verabreichung von Sulfaguanidin waren sowohl äußerlich als auch bei der Sektion zu erkennen. So starben von 12 Tieren 5, 2 kümmerten und zeigten wie die 5 übrigen ein struppiges, nicht glänzendes Haarkleid und stark verringerte Gewichtszunahmen. Bei der Sektion fielen besonders die Nieren und Blasenveränderungen auf.

Die Darmflora läßt sich mit Hilfe der Teststoffkombination soweit ausschalten, daß ein Mangel an nichtessentiellen B-Vitaminen erzeugt werden kann: Wurde nämlich halbsynthetische Kost ohne Zugabe von nichtessentiellen B-Vitaminen verabreicht, so hatten nach 10 Wochen Versuchsdauer die Gruppen mit hohen Antibiotikagaben weniger an Gewicht gewonnen als die Kontrollgruppe. Erhielten gleich ernährte Tiere statt der Antibiotikakombination Resulfon, so starben von 15 Tieren 12 vorwiegend in den ersten Versuchstagen. Bei den Überlebenden Tieren traten von Versuchsanfang an starke Gewichtsdepressionen auf. Diese können unmöglich als Folge eines durch Ausschaltung der Darmflora induzierten Vitaminmangels aufgetreten sein, da die Körpervorräte an Vitaminen nach dieser kurzen Zeit sicher noch nicht erschöpft waren.

Um zu zeigen, an welchen nichtessentiellen B-Vitaminen ein Mangel erzeugt wurde, erhielten die Tiere der beiden Gruppen mit den höchsten Antibiotikagaben im Anschluß an die Mangelperiode die fehlenden B-Vitamine im Futter, wobei jeweils eines der nichtessentiellen B-Vitamine weggelassen wurde. So wurde festgestellt, daß das Fehlen von Biotin und Folsäure die Gewichtsentwicklung besonders stark gehemmt hatte.

In weiteren Versuchen, einmal an Älteren und einmal an jüngeren weißen Ratten, konnte demonstriert werden, daß eine Caseumvergrößerung bei Gabe der höchsten Antibiotikakombination schon nach 6 Std. beginnt und nach 8-10 Tagen voll ausgebildet ist. Die Rückbildung ist etwa 25-30 Tage nach Absetzen des Mittels abgeschlossen.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß durch eine Gabe von 1200mg Neomycin, 60mg Bacitracin und 150mg Nystatin pro kg Kost die Darmflora der Ratte praktisch ausgeschaltet werden konnte, ohne daß schwerwiegende Nebenwirkungen beobachtet wurden.

Literaturverzeichnis.

1. Barnes, H.R. G. Fiala, E. McGehee a. A. Brown
J.Nutr. 64 533 (1958)
2. Broschüre der Chem.Fabrik von Heyden.
3. Brunner, R. G. Machek
Die Antibiotika II (1965) Verlag Hans Karl, Nürnberg.
4. Briggs, G.M.Jr. T.D. Luckey, R.C. Mills, C.A. Elvehjem
Proc.Soc.exp.Biol.Med. 52 7 (1944)
5. Black, S. C.A. Elvehjem
Proc.Soc.exp.Biol.Med. 145 308 (1941)
6. Daft, F.S. W.H. Serell
Vitamins and Hormones 3 49 (1945)
7. Dam, H. E. Sonnergaard
Wissenschaftl. Veröffentlich. der Dt. Ges. f. Ern. B. IV (1959)
8. Dymsha, H.A. G.S. Stoewsand
Diet and intestinal microflora, interrelationships
in the gnotobiotic rat.
Fed.procs. 1641 482 (1956)
9. Emerson, G.A. H.G. Obermeyer
Proc.Soc.exp.Biol.Med. 59 299 (1945)
10. Fiesler, J.A.
Am.J.Phys. 188 550 (1957) zit.Proc.Soc.exp.Biol.Med.
110 455 (1962)
11. Francois, A.C. M. Michel, Flora of the digestive
tract and nutrition of the host.
Scient.Publ. 239 Oxford (1964)
12. Gernard, K.H. Schabinsky, G.
Untersuchungen über die Abhängigkeit des Serum-
komplements von der Darmflora.
Dt.med. Wochenschrift 32 82 (1957)

13. Gordon, H.A. J.B.Doll, B.S.Westmann
Effects of normal bacterial flora on various
morphological characteristics of the animal host:
a comparative study of germfree and normal stock
chickens, rats and mice.
Zit. nach, The anatomical record 130 307 (1958)
14. Gordon, H.A. N.Y. Ann
Acad. Sci. 78 208 (1959)
15. Gustafson, B.E.
Germfree rearing of rats, Preliminary report
Acta Anat. 2 376 (1947)
16. Haenel, H.
Zur Problematik der Darmflora
Die Pharmazie 781 (1956)
17. Haenel, H.
Vergleichende, quantitative Untersuchungen über
die Caecal u. Kotflora von Ratten.
Zentralbl.f.Bakt. Originale 165 119 (1956)
18. Haenel, H.
Vergleichende, quantitative Untersuchungen über
Keimsahlen in den Faeces des Menschen u. einiger
Wirbeltiere.
Zentralbl.f.Bakt. 1.Abt.Origin. 167 123 (1957)
19. Halevy, S. E.J.Diamant, K.Guggenheim
The effect of antibiotics on the metabolism of
nicotinic acid, biotin and folic acid in rats.
Brit.j. of Nutr. 9 57 (1955)
20. Hausmann, K.
Die Bedeutung der Darmbakt. für die Vit.-B₁₂ und
Folsäureversorgung der Menschen und Tiere.
Klin.Wochenschr. 33 354 (1955)
21. Hauschild, F.
Pharmakologie und Grundlagen der Toxikologie.
Thieme-Verlag, Leipzig 144 (1956)

22. Hertrampf, J.
Eine Orientierung über den antibiot. Puttersu-
satz von Zinkbasitr. in der Tierernährung.
A/S Apothekernes Laboratorium for Special-
præparater Oslo/Norwegen 3 6 (1965)
23. Hütsel, D.
Der Einfluß suboptimaler Versorgung mit B.-Vit.
auf die Belastungsfähigkeit des Stoffwechsels.
Schriftenreihe des Instituts f. Ernährungswissft.
der J.L. Univ. Gießen (1962)
24. Hudson, J.A. T.D. Luckey
Bacteria induced morphologic changes.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 116 268 (1964)
25. Johansson, K.R.
Hospitals 25 156 (1953)
26. Kellermann, R.
Milchwirtschaftliche Mikrobiologie 3 325 (1962)
27. Knothe, H.
Dtsch. med. Wochenschr. 82 1685 (1957)
28. Kon, P.M. S.K. Lon, A.T. Mattik
J. Hyg. 38 1 (1938) zit. Proc. Soc. exp. Biol. Med.
110 455 (1962)
29. Kreis, H.
Dissertation, Gießen (1965)
30. Luckey, T.D.
Gnotobiologic evidence for functions of the micro-
flora.
Ernährungsf., Berichte und Mitteilungen. Band I
Heft 2-3 192 (1965)
31. Luckey, T.D.
Some observations on vitamin metabolism in germ-
free rats.
J. Nutr. 57 169 (1955)
32. Luckey, T.D.
Germfree life and gnotobiology .
Academic Press, New York (1963)

33. Marten, G.
Vitamins a. Hormones 6 172 (1954)
34. Mehnert, B.
Pilse im Verdauungstrakt.
Ernährungsforschung, Ber.u.Mitteil. 503 (1965)
35. Meyer-Rohn, J. et al.
Arzneimittelforschung, 7 355 (1957)
36. Miller, T. T.D. Luckey
Indirect evidence for the intestinal synthesis
of folic acid in the monoinfected chicks.
Fed. Proc. 21 476 (1962)
37. Moore, P.R. A. Evenson, T.D. Luckey
J. Biol. Chem 165 437 (1946)
38. Pabst, W. H. Rembold
Über das Verhalten des Biopferins im Säugetier-
organismus.
Hoppe-Seilers Zeitschr.f. Physiol. Chemie
344 Heft 1-3 107
39. Persönliche Mitteilungen der Firma von Heyden AG,
München v. 28.2.1966
40. Persönliche Mitteilungen der Chem. Fabrik Grün-
thal Stollberg, Rhl. v. 24.2.1966
41. Petuely, F. Lindner, G.
Untersuchungen über den Regulationsmechanismus
für die Darmflora und ihr Beeinflussung durch
Terramycin.
Zentralbl. f. Bakt. 1. Abt. Originale
167 178 (1957)
42. Petuely, F. G. Lindner
Kritische Untersuchungen über die Darmflora.
Zentralbl. f. Bakt. 1. Abt. Originale
177 332 (1960)
43. Reyniers, J. A.
Germfree life methodology (gnatobiotik) and experi-
mental nutrition.
Proc. of the 3. intern. Congress of Biochemistry,
Brüssel 3 458 (1955)

44. Samuel, P. A. Steiner
Proc. Soc. Biol. Med.
100 193 (1959)
45. Schabinsky, G. R. Althammer
Untersuchungen über die Darmwirksamkeit von
Streptomycin.
Klin. W.-Schr. 36. Jahrg. Heft 211 103 (1958)
46. Schröder, H. M. Fuchs
Antibiotika u. Vitaminstoffwechsel
Klin. W.-Schr. 33 278 (1955)
47. Sternberg, F. H.
Antibiot. Annual 1953-54
Medical encyclopaedia New York 199 (1953)
48. Standberg, K. B. Gustafson
Effect of some biologically active amines of
the oesophagus of germfree rats.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 121 699 (1966)
49. Valach, S.
Dissertation, Gießen (1967)
50. Völker, H.
Lehrbuch der Toxikologie für Tierärzte.
Ferdin. Enke Verlag, Stuttgart 192 (1950)
51. Weingärtner, L.
Ärztl. W.-Schr.
11 341 (1956)
52. Waters, R. M. A. B. Longrace
Observation on Absorption of Bacitracin
Blood levels following oral Administration.
Surgery, Gynecology and Obstetrics.
92 213 (1951)
53. Zahn, D.
Zur biol. Vit. testung mit artverschiedenen
Bact. Coli u. Bact. Aerogenes.
Klin. W.-Schr. 30. Heft 39/40 953 (1952)

Lebenslauf.

In Habitzheim, einer kleinen Gemeinde im vorderen Odenwald, wurde ich am 14.3.1938 als Sohn des Landwirtes Richard Seeger und seiner Ehefrau Anna geboren. Hier besuchte ich die Volksschule vom Herbst 1944 bis zum Frühjahr 1949, danach bis zum Abitur 1959 die Max-Planck-Schule in Groß-Umstadt. Daran schloß sich ein einjähriger Militärdienst bis zum Frühjahr 1960 an.

Im Sommersemester 1960 begann ich mit dem Studium der Veterinärmedizin in Gießen und bestand das Abschluß-examen am 15. März 1965. Die Approbation erhielt ich nach halbjähriger Praktikantenseit am 17. September 1965. Seit Januar 1966 bin ich als Doktorand am Institut für Ernährungswissenschaft in Gießen tätig.

Heist Seeger

H. Gahmig · Graph. Anstalt · 63 Gießen · Klinikstraße 21 · Telefon 78546

